

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



**VITAMINA D Y LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO:
RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, CON
LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD Y CON MARCADORES DE
ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA**

KHUSAMA ALKADI FERNÁNDEZ

TESIS DOCTORAL

MADRID, 2013

KHUSAMA ALKADI FERNÁNDEZ

VITAMINA D Y LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO:
RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, CON LA ACTIVIDAD DE LA
ENFERMEDAD Y CON MARCADORES DE ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA

DIRECTORES:

DRA. DÑA. SUSANA TERESA MELLOR PITA. FACULTATIVO ESPECIALISTA DE ÁREA DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA.

DR. D. MIGUEL YEBRA BANGO. PROFESOR ASOCIADO DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID Y JEFE DE SECCIÓN DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

2013

Esta tesis ha sido realizada en el Laboratorio de Medicina Interna del Hospital
Universitario Puerta de Hierro de Madrid

*La ciencia es respecto del alma lo que es la luz respecto de los ojos,
y si las raíces son amargas, los frutos son muy dulces.*

Aristóteles (384 a.C.-322 a.C.)

AGRADECIMIENTOS

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada con la colaboración de numerosas personas a las que quiero ofrecer mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar a mis directores de tesis, la Dra. Susana Teresa Mellor Pita y el Dr. Miguel Yebra Bango, por el esfuerzo y atención puestos en la realización de esta Tesis Doctoral. A la Dra. Susana Mellor, por confiar en mi este proyecto, por sus inmejorables consejos e ideas y por su inestimable paciencia y ayuda, sin la cual, esta tesis no hubiera podido ser realizada. Al Dr. Miguel Yebra, por la orientación de este trabajo, siendo un elemento de ánimo e inspiración continua y por su incansable y desinteresada entrega a la Medicina y a la docencia. Es difícil que estas breves palabras puedan mostrar todo mi agradecimiento hacia vosotros, no sólo por mi formación académica, la cual sin duda fue muy importante, sino también por la confianza depositada en mí y por vuestro ejemplo de trabajo y dedicación.

A la Dra. Raquel Castejón Díaz, por su incondicional apoyo y por su excepcional esfuerzo diario en que los proyectos de investigación desarrollados en el Laboratorio de Enfermedades Autoinmunes se lleven a cabo, por inculcarme el rigor científico y por su inagotable paciencia. Gracias Raquel, por haberme permitido compartir tu gran calidad humana y profesional.

Al resto de componentes del Laboratorio de Enfermedades Autoinmunes, a María Jesús Citores y especialmente a Silvia Rosado, por su enseñanza y aporte técnico en el laboratorio.

Al Dr. Carlos Jiménez Ortiz, por su exhaustiva colaboración a la hora de realizar esta tesis. Por enseñarme los fundamentos de la elasticidad arterial y por realizar los estudios en los pacientes.

Al Dr. Fernando Granado, por contribuir con su experiencia y conocimiento en las sesiones de investigación desarrolladas a lo largo de este trabajo.

A los componentes de la Unidad de Enfermedades Autoinmunes del Hospital Puerta de Hierro Majadahonda, al Dr. Juan Antonio Vargas y el Dr. Pablo Tutor. Gracias a todos por permitirme participar en vuestras reuniones, por vuestras ideas y ganas de colaborar.

A los miembros del Servicio de Medicina Interna del Hospital Puerta de Hierro Majadahonda, por su enseñanza a lo largo de todo este tiempo.

A los residentes del Hospital Puerta de Hierro Majadahonda, por compartir conmigo todos esos buenos momentos.

Agradezco a Isabel Millán su consejo en los análisis estadísticos y a los miembros de la secretaría de Medicina Interna, su colaboración a la hora de gestionar las citaciones de los pacientes.

Quisiera dar las gracias así mismo a mi tutor durante la residencia, el Dr. José Manuel Blanco, por su ayuda y supervisión a lo largo de todo este tiempo, contribuyendo a formarme como médico y como persona. Al Dr. Emilio Cervera, por transmitirme su espíritu investigador. Así como a todos los miembros del Centro de Salud Valle de la Oliva y en especial a la Dra. Mónica Gracia, por su apoyo.

Por último, quisiera agradecer a mis padres la oportunidad que me dieron de estudiar Medicina, su cariño, generosidad y apoyo; y en especial a mi padre, que me inculcó su amor por esta profesión y me enseñó que para ser un buen médico, primero hay que ser una gran persona. A mis hermanos, agradecer sus ánimos y su valiosa ayuda. Y a Fernando, el transmitirme su perseverancia en el trabajo y apoyarme siempre.

A ellos les dedico esta Tesis.

A mis padres

A mis hermanos

A Fernando

ABREVIATURAS

1,25-dihidroxicolecalciferol: 1,25

dihidroxitamina D o calcitriol

25-hidroxicolecalciferol: 25

hidroxivitamina D o calcidiol

μl: Microlitro

AAS: Ácido Acetil Salicílico

ACR: American College of Rheumatology

ACV: Accidente cerebrovascular

C1q: Molécula del sistema del
complemento

CPE: Células progenitoras endoteliales

CV: Cardiovascular

DE: Desviación estándar

DM: Diabetes Mellitus

DNA: Ácido desoxiribonucleico

dsDNA: Native double-stranded DNA
antibody

ECV: Enfermedad cardiovascular

ELISA: Enzimoinmunoanálisis

GIM: Grosor Íntima-Media

HDL-Col: Colesterol de alta densidad

HTA: Hipertensión arterial

IAM: Infarto agudo de miocardio

IC 95%: Intervalo de confianza al 95%

ICC: Insuficiencia cardiaca congestiva

IECAs: Inhibidores de la enzima
convertidora de angiotensina

IMC: Índice de masa corporal

IgG: Inmunoglobulina G

IL-10: Interleucina-10

IQR: Rango intercuartil

ITB: Índice tobillo-brazo

LDL-Col: Colesterol de baja densidad

LES: Lupus eritematoso sistémico

MFM: Micofenolato de mofetil

ng: Nanogramo

nmol: Nanomol

OR: Razón de ventajas

PCR-us: Proteína C reactiva ultra sensible

PTH: Paratohormona

RR: Riesgo relativo

SLEDAI: Systemic Lupus Erythematosus
Disease Activity Index

SLICC/ACR: Systemic lupus International
Collaborating Clinics/ American Collage of
Rheumatology Damage Index

TA: Tensión arterial

TAD: Tensión arterial diastólica

TAS: Tensión arterial sistólica

TC: Tomografía computarizada

TPA: Total Plaque Area

TG: Triglicéridos

TNF: Factor de necrosis tumoral

UI: Unidades Internacionales

UVA: Ultravioleta A

UVB: Ultravioleta B

VSG: Velocidad de sedimentación globular

VOP: Velocidad Onda Pulso

VDR: Receptor de la vitamina D

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO (LES)	2
1.1. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN EL LES	2
1.2. ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA EN EL LES	4
1.3. ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD	8
1.4. CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES COMO NUEVOS MARCADORES DE ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA EN EL LES	9
2. VITAMINA D	11
2.1. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	14
2.2. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES RELACIONADOS CON EL LES	19
2.3. 25 HIDROXIVITAMINA D COMO MARCADOR PRECOZ DE ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA	20
2.4. 25 HIDROXIVITAMINA D Y CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES	23
2.5. SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D Y CALCIO	24
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	28
MATERIALES Y MÉTODOS	31
1. PACIENTES	32
2. PROTOCOLO Y DISEÑO	33
2.1. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	34
2.2. FACTORES RELACIONADOS CON EL LES	35
3. DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D EN EL SUERO	39
4. PROCEDIMIENTOS DE DETECCIÓN DE ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA	39
4.1. CUANTIFICACIÓN DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (GIM)	39
4.2. MEDIDA DE LA ELASTICIDAD ARTERIAL MEDIANTE VELOCIDAD DE ONDA PULSO (VOP)	40
5. DETERMINACIÓN DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES Y CÉLULAS ENDOTELIALES APOPTÓTICAS CIRCULANTES	43
6. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA	45

RESULTADOS	46
1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS PACIENTES	47
1.1. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	47
1.2. FACTORES RELACIONADOS CON EL LES	49
2. DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D EN EL SUERO	52
3. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	53
4. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D Y MARCADORES DE INFLAMACIÓN	57
5. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES RELACIONADOS CON EL LES	59
6. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D Y ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA	61
6.1. MEDIDA DE LA RIGIDEZ ARTERIAL POR VELOCIDAD ONDA DE PULSO (VOP) Y MEDIDA DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (GIM)	61
6.2. CUANTIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES EN SANGRE PERIFÉRICA	65
DISCUSIÓN	67
1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN INCLUIDA EN EL ESTUDIO	70
2. CONCENTRACIÓN SÉRICA DE 25 HIDROXIVITAMINA D	71
3. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	74
4. 25 HIDROXIVITAMINA D Y MARCADORES DE INFLAMACIÓN	78
5. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES RELACIONADOS CON EL LES	80
6. 25 HIDROXIVITAMINA D Y ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA	84
CONCLUSIONES	90
BIBLIOGRAFÍA	92

INTRODUCCIÓN

1. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

El Lupus eritematoso sistémico (LES), prototipo de las enfermedades autoinmunes, es una enfermedad multisistémica que se caracteriza por una alteración en la respuesta inmunológica con producción de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos celulares. El resultado final es la afección de múltiples órganos y sistemas. Factores genéticos, ambientales y hormonales conducen a una alteración del sistema inmunitario (pérdida de tolerancia) que desencadena una respuesta de autorreactividad frente a las propias estructuras del organismo. Durante la enfermedad, la producción de anticuerpos es estimulada por la presencia de antígenos propios (en forma de complejos antigénicos) que, liberados por células con defectos en los mecanismos apoptóticos, se convierten en inmunogénicos y estimulan la producción de anticuerpos IgG. Al final, y por sus especiales características, estos inmunocomplejos (complejo antígeno-anticuerpo) causan la inflamación y la destrucción de los tejidos.

Esta entidad presenta una gran complejidad desde el punto de vista clínico, ya que tiene una gran variedad de patrones de expresión, quizá debido a que no se trata de una enfermedad como tal, sino de un síndrome en el que caben etiologías, fisiopatologías y pronósticos diferentes.

1.1. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN EL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Hay estudios que proporcionan evidencia clínica del aumento de la incidencia de sufrir un evento coronario de los pacientes con LES. El estudio inicial de Urowitz *et al*¹ de 1976 cifró esta incidencia en 7,4%. Estudios posteriores de la cohorte de Toronto de Abu-Shakra *et al*² de 1995 estiman un 10% y frecuencias similares se describieron en las cohortes de Baltimore de Petri *et al*³ de 1992 y de Pittsburgh de Manzi *et al*⁴ de 1997.

En series más actuales y con mayor número de pacientes (1087 pacientes) y seguimiento (8,4 años) Urowitz *et al*^{5,6} observaron una incidencia de 10,9% de eventos vasculares de origen arteriosclerótico, siendo este dato muy similar a los previos.

Siguiendo con las evidencias clínicas, Manzi *et al*⁴ comprobaron que las mujeres con LES entre 35 y 44 años tenían 50 veces más frecuencia de padecer un infarto de miocardio que las mujeres de la misma edad y semejantes factores de riesgo de la cohorte del estudio Framingham. Estos autores concluyeron que la enfermedad cardiovascular es siete veces más frecuente en LES que en la población general. De forma similar, un estudio de casos-controles dirigido por Fisher *et al*⁷ en 2004, mostró que el lupus era un factor de riesgo de infarto de miocardio independientemente de los factores de riesgo clásicos, enfermedad cardiovascular previa e insuficiencia renal.

Para evaluar los cambios en el patrón de mortalidad de estos pacientes, existe un estudio de Bernatsky *et al*⁸ de seguimiento a largo plazo (entre 1958 y 2001) de una cohorte internacional de 9547 pacientes en el que se objetiva un incremento de la mortalidad de causa cardiovascular en las últimas 3 décadas a la vez que una disminución de la mortalidad por shock séptico e insuficiencia renal terminal.

A la vista de todos estos datos, cabe plantearse por qué el sistema cardiovascular de los pacientes con LES es tan vulnerable y cual es la relación entre el LES y la arteriosclerosis.

Existen estudios que sugerían un **aumento en la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular**. Así Petri *et al*³ estimaron la prevalencia de los factores “clásicos” en una cohorte de 225 pacientes con LES, demostrando que el 53% tenían 3 ó más de los 7 factores de riesgo considerados. Bruce *et al*⁹ en 2003, observó en pacientes lúpicos frente a controles, una diferencia estadísticamente significativa para la **hipertensión**, la **diabetes** e incluso para la **media de factores de riesgo CV por persona**. Al comparar pacientes lúpicos con afectación coronaria con aquellos que no la tenían, Manzi *et al*⁴ observaron mayor

hipercolesterolemia en los pacientes lúpicos con afectación coronaria. Del mismo modo, Petri *et al*³, concluyen un aumento significativo del porcentaje de **hipertensión arterial, hipercolesterolemia y obesidad** en los pacientes con evidencia de patología cardiovascular frente a los que no estaban afectados.

Estos estudios sugieren que los pacientes con LES tienen más factores de riesgo que la población general y en consecuencia, más enfermedad coronaria, aunque se ha demostrado que estos factores de riesgo por sí solos, no explican el gran incremento de incidencia de eventos vasculares. Esdaile *et al*¹⁰ en 2001, demostraron que la presencia de LES aumenta el riesgo cardiovascular (riesgo relativo (RR) 7,5) y de ictus (RR 7,9). En 1999, Rahman *et al*¹¹ demostraron que los pacientes con LES necesitan menos factores de riesgo de los llamados clásicos para desarrollar enfermedad isquémica coronaria, por lo que debe existir una actividad aterogénica dada por la propia enfermedad.

1.2. ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA EN EL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Dada la elevada incidencia de enfermedad coronaria y relevancia pronóstica de la misma en pacientes con LES, parece justificado la identificación precoz de arteriosclerosis subclínica a distintos niveles, preferiblemente con técnicas no invasivas y de fácil aplicación en la práctica diaria.

Entre éstas técnicas, se encuentran el **índice tobillo-brazo (ITB)** que se trata de un método reproducible con una alta sensibilidad y especificidad para detectar enfermedad arterial periférica. Hay estudios como el de Papamichael *et al*¹² en el año 2000, que sugieren que podría ser un predictor de arteriosclerosis coronaria y eventos cardiovasculares y una herramienta útil para la detección precoz de arteriosclerosis en la población general. En el LES, Theodoridou *et al*¹³ en 2003, midieron el ITB en 91 pacientes con LES con una media de

edad de 39 años y demostraron que a pesar de tratarse de pacientes jóvenes tenían una prevalencia de ITB patológico del 37%, lo que sugiere patología vascular asintomática.

Existen diversos estudios que han valorado la **existencia de placa carotídea** mediante ecografía modo-B. Roman *et al*¹⁴ compararon la prevalencia de placa carotídea en una cohorte de mujeres con LES y un grupo control ajustado por edad, sexo, raza y presión arterial. Los pacientes con LES tenían una prevalencia significativamente más alta de placa carotídea en todos los grupos de edad respecto a los controles. Hallazgos similares se encontraron en el estudio de Ahmad *et al*¹⁵ con 200 mujeres con LES y 100 controles y en la cohorte de Pittsburg de Manzi *et al*¹⁶, en la que determinaron la prevalencia de placa carotídea en 175 mujeres con LES. Todos estos estudios intentan correlacionar los hallazgos ecográficos con factores de riesgo clásicos, hallándose resultados estadísticamente significativos con algunos de ellos.

Cuatro años más tarde, el mismo grupo de Roman *et al*¹⁷, estudió la existencia de placa carotídea en 159 pacientes y analizó la existencia de nuevas placas o la progresión de las mismas en un seguimiento ecográfico de 3 años. Los resultados mostraron una tasa de progresión de 10% por año, dato que es más alto que el 5% de los individuos controles. En este estudio, también intentaron correlacionar la existencia de placa y la progresión de la misma con diversas variables para intentar encontrar factores predictores de progresión de la arteriosclerosis y encontraron significación estadística con la edad al diagnóstico de LES, la duración de la enfermedad y los niveles de homocisteína.

Otro método empleado para detectar enfermedad coronaria asintomática, es la determinación mediante **tomografía computarizada** (TC) del depósito de calcio en las arterias coronarias, que es un marcador de arteriosclerosis. Hay estudios que han demostrado que la calcificación coronaria y por tanto, la arteriosclerosis asintomática, es más frecuente en pacientes con LES que en individuos sanos^{18,19,20}.

Existen trabajos realizados por Bruce *et al*²¹ en el año 2000 y por Nikpour *et al*²² en 2009, que han sugerido que el estudio de la perfusión miocárdica mediante **SPECT** (Single Photon Emission Computed Tomography) podría ser un predictor de enfermedad coronaria, así como la **arteriografía coronaria**, aunque al realizar a los pacientes con defectos de perfusión en la prueba con isótopos una arteriografía, se identificaron estenosis significativas en sólo el 38% de los pacientes²³.

Por otra parte, Ross *et al*²⁴ en 1999 describe el papel importante que el endotelio juega en la patogénesis de la arteriosclerosis subclínica. Varias técnicas que valoran la **función endotelial** han sido validadas en la población general, todas midiendo la repuesta de la célula endotelial a estímulos farmacológicos o fisiológicos. Existen trabajos que demuestran esta disfunción endotelial determinada mediante la disminución de la dilatación mediada por flujo en pacientes con LES^{25,26,27}. Una de estas técnicas mide la vasodilatación endotelial mediada por óxido nítrico, en respuesta a la isquemia inducida cuando se hincha un manguito de presión, demostrando la asociación de la disfunción endotelial con la actividad de la enfermedad y la arteriosclerosis en pacientes con LES²⁵.

El **grosor íntima-media (GIM)** en arteria carótida común determinado mediante ecografía doppler ha sido aceptado como marcador precoz de arteriosclerosis subclínica²⁸ y parece estar asociado a incremento de riesgo de infarto de miocardio e ictus²⁹. En los pacientes con LES el papel del GIM ha sido más debatido. Son muchos los trabajos que han comparado las medidas de GIM en paciente con LES y en controles de características similares. Varios de estos trabajos han obtenido diferencias significativas, encontrando que el GIM era mayor en pacientes lúpicos y que aumentaba con la edad y con la mayor duración de la enfermedad, por lo que todos ellos propusieron que éste último parámetro sea utilizado para detectar estadios tempranos de arteriosclerosis subclínica^{28, 30, 31, 32, 33}.

Por último, la **velocidad de onda de pulso (VOP)** mide elasticidad arterial, lo cual es importante porque alteraciones de la elasticidad arterial pueden traducir de forma precoz cambios que predispongan al desarrollo de patología vascular. Un reciente meta-análisis de diecisiete estudios reveló que un incremento de la velocidad de onda pulso de 1m/s puede incrementar el riesgo cardiovascular en más de un 14%³⁴. Selzer *et al*³⁵ en 2001 fue uno de los primeros en realizar un trabajo que evaluaba los factores de riesgo asociados con la pérdida de elasticidad arterial medida por VOP en mujeres con LES. Observó que la VOP estaba aumentada en los pacientes con mayor número de factores de riesgo CV previos. En 2004, el mismo autor vio que la rigidez arterial estaba asociada con la edad, la presión arterial sistólica, enfermedad renal y otros marcadores como niveles elevados de C3, leucopenia e hiperinsulinemia³⁶. Tso *et al*³⁷ en 2005 realizaron un estudio similar, cuyo objetivo era identificar la relación entre la VOP y los factores cardiovasculares y Shang *et al*³¹ evaluaron la relación entre la elasticidad arterial, la actividad de la enfermedad y el daño orgánico producido por el LES. En ambos estudios, las pacientes tenían incrementada la VOP en comparación con los controles y se correlacionaba con el índice de actividad del LES (SLEDAI) y con el índice de daño orgánico (SLICC/ACR). Cacciapaglia *et al*³³ en 2009, también estudiaron la rigidez arterial midiendo la tensión vascular, la distensibilidad vascular, la elasticidad arterial y el módulo de elasticidad (pressure-strain elastic modulus) y concluyeron que los pacientes con LES tenían alterados todos estos parámetros en comparación con los controles.

En un trabajo español del año 2009, se concluyó que los pacientes con LES y síndrome metabólico tenían mayor VOP comparados con aquellos sin síndrome metabólico³⁸, lo que sugiere que el síndrome metabólico debe contribuir al desarrollo de arteriosclerosis acelerada en el LES.

Después de todo lo anterior podemos afirmar que el LES y la arteriosclerosis están íntimamente unidos y ello se puede explicar porque comparten mecanismos etiopatogénicos comunes.

1.3. ACTIVIDAD EN EL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Parece claro que en el LES existe un aumento del riesgo de arteriosclerosis y aunque existen estudios que han demostrado un incremento en la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos en estos pacientes, otros sugieren que el incremento del riesgo no es sólo atribuible a éstos y que existe un factor adicional que es la propia enfermedad y los factores relacionados con ella.

Hay trabajos importantes en los que también se relaciona un **índice SLICC/ACR** alto con la presencia de estenosis coronaria en angiografía y con incremento en el GIM^{16,23}. En el trabajo de Maksimowickz *et al*³⁹ de 2006, observaron un aumento de la incidencia de placa carotídea no explicado por los factores de riesgo convencionales e identificaron la edad, la tensión arterial sistólica, los **niveles de C3** elevados y una puntuación >3 en el **índice de daño orgánico** como factores independientes para el desarrollo de arteriosclerosis. Otros estudios han relacionado el aumento de C3 con aumento de la velocidad onda-pulso³⁶ y con la rigidez arterial^{31,37}. En la población general, estudios como el de Muscari *et al*⁴⁰ en 1995 han identificado también niveles de C3 como factor de riesgo independiente de IAM en hombres sin eventos isquémicos previos. Urowitz *et al*⁵ en 2007, identificaron como factores de riesgo relacionados con el LES, la presencia de **vasculitis y de afectación neuropsiquiátrica**. La **enfermedad renal** y el desarrollo de nefritis lúpica han sido asociadas con hipertensión e incremento del riesgo de arterioesclerosis. Muchos estudios han encontrado que la proteinuria mantenida está asociada al desarrollo de arteriosclerosis subclínica en el LES^{14,41}. La creatinina ha sido identificada como factor de riesgo por Maksimowickz-McKinnon *et al*³⁹, y en un estudio posterior de Thompson *et al*⁴² de 2008

como predictor independiente de progresión del GIM en pacientes con LES, sugiriendo que el daño renal contribuye o es un marcador de progresión de enfermedad cardiovascular.

Un factor importante a tener en cuenta en el desarrollo de arteriosclerosis en el LES es la **relación con el tratamiento**. El papel de los corticoides en el desarrollo de arteriosclerosis es controvertido. Por un lado, existen estudios que relacionan el tratamiento con corticoides con mayor arteriosclerosis, basándose en que la terapia con esteroides empeora los factores de riesgo clásicos, aumentando la incidencia de hipertensión, diabetes y empeorando el perfil lipídico⁴³. Existe un trabajo del año 2008 en el que observaron que dosis altas de corticoides estaban asociadas a un aumento significativo del riesgo de ECV después de ajustar por la actividad y duración de la enfermedad⁴⁴. Sin embargo, otros observaron que una terapia intensiva mejoraba los mecanismos de inflamación del LES que también están implicados en el desarrollo de la arteriosclerosis¹⁴.

1.4. CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES COMO NUEVOS MARCADORES DE ATEROSCLEROSIS SUBCLÍNICA EN EL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

La reparación vascular está mediada principalmente por las células progenitoras endoteliales (CPE) derivadas de la médula ósea, que comparten características tanto de células *stem* hematopoyéticas como de células endoteliales. En respuesta a señales de estímulo indicativas de daño vascular, las CPE son capaces de migrar a sangre periférica, proliferar y diferenciarse a células endoteliales maduras⁴⁵.

En la **población general**, se ha descrito que los individuos con disminución del número de CPE circulantes tienen mayor riesgo de enfermedad cardiovascular que los individuos con números normales de CPE⁴⁵. También se ha visto que los pacientes con factores de riesgo cardiovascular o con enfermedades caracterizadas por una

arteriosclerosis prematura muestran una reparación vascular aberrante, niveles disminuidos y una funcionalidad anómala de las CPE⁴⁶.

En **pacientes con LES**, existe algún estudio que cuantifica éstos progenitores como marcador de daño endotelial y describe un defecto en la funcionalidad de CPE pero no en el número⁴⁷. En otro trabajo en el LES, además de objetivarse una funcionalidad de las CPE alterada, se ha descrito una reducción del número de células progenitoras endoteliales circulantes⁴⁸, incluso en pacientes en remisión clínica⁴⁹.

Hay autores que han intentado correlacionar la deficiencia de CPE con el grado de actividad de la enfermedad¹⁰ y con el desarrollo prematuro de arteriosclerosis⁴⁹. Por el contrario, otros autores determinan que los pacientes lúpicos tienen un mayor número de células endoteliales en respuesta a la reparación del daño endotelial⁵⁰.

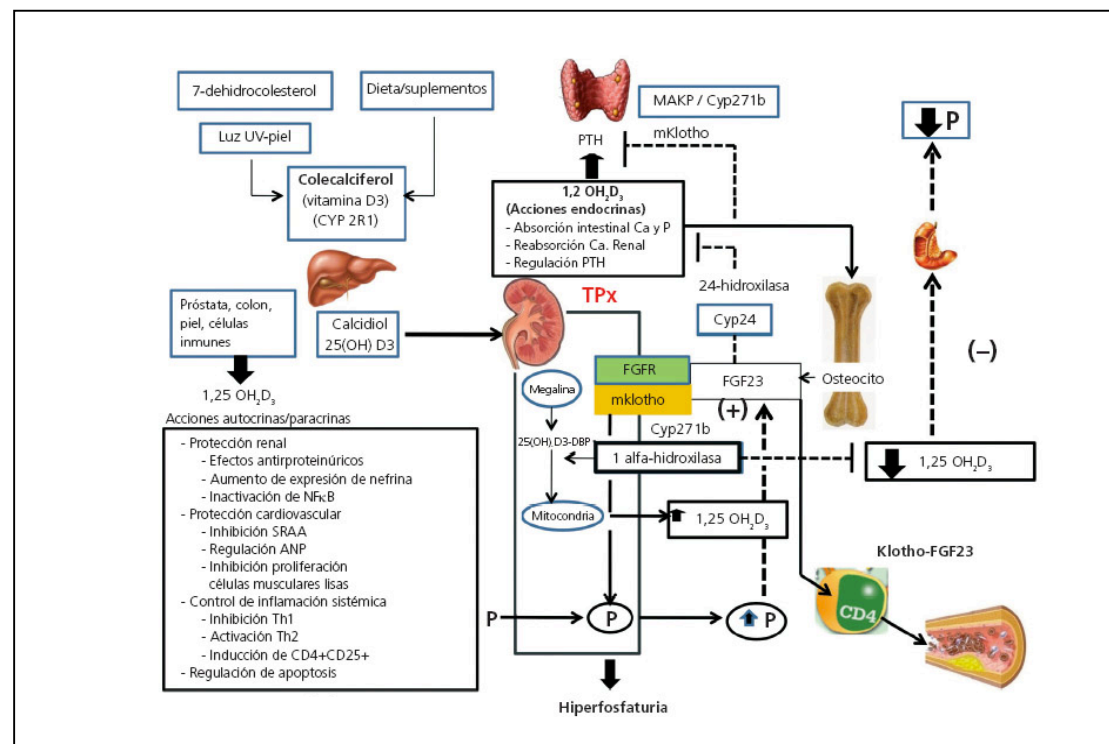
2. VITAMINA D

La vitamina D es un heterolípido insaponificable del grupo de los esteroides. Se trata de una provitamina soluble en grasas. Existe fisiológicamente en dos formas: vitamina D2 o ergocalciferol y vitamina D3 o colecalciferol.

La principal fuente de vitamina D es la conversión de 7-dehidrocolesterol a previtamina D3 que luego se transforma a vitamina D3 en la piel, por la acción de la radiación ultravioleta B del sol. Una pequeña cantidad de vitamina D proviene de la ingesta mediante la dieta (particularmente el pescado, sobre todo salmón y atún).

La vitamina D3 se almacena en el tejido adiposo y por la acción de la 25 hidroxilasa en el hígado, se convierte en 25 hidroxivitamina D o calcidiol que es la principal forma circulante de vitamina D y refleja el aporte de la exposición solar y la dieta. La forma activa de la vitamina D es la 1,25 dihidroxivitamina D o calcitriol que se genera en el riñón por la 25 hidroxivitamina D-1 α hidroxilasa, enzima que es principalmente inducida por la PTH. La 1,25 dihidroxivitamina D circula en más bajas concentraciones que la 25 hidroxivitamina D y tiene una vida media más corta pero tiene mucha más afinidad por el receptor de la vitamina D y es biológicamente más potente.

El estado de la concentración de vitamina D sérica, es mejor determinarlo por los niveles de 25 hidroxivitamina D, porque sus niveles reflejan la vitamina D global proveniente de la exposición solar, la dieta y de la conversión de la vitamina D3 almacenada en el tejido adiposo en el hígado, tiene una vida media más larga y una concentración mayor que la 1,25 dihidroxivitamina D.

Figura 1. Metabolismo de la Vitamina D

25(OH) D₃: calcidiol ó 25 hidroxivitamina D. 1,25 OH₂ D₃: calcitriol ó 1,25 dihidroxivitamina D. TPx: túbulo proximal. MAKp: mitogen activated protein kinases. CYP27B1: citocromo 450 que contiene hidroxilasa y se expresa en el riñón. Cyp24: hidroxilasa que cataboliza la vitamina D.

Actualmente no existe un consenso en relación a la definición de los **niveles óptimos de 25 hidroxivitamina D** determinados en el suero. La gran mayoría de expertos coinciden en establecer que la deficiencia, equivale a presentar niveles de 25 hidroxivitamina D séricos inferiores a 50 nmol/l (20 ng/ml)⁵¹. Según las recomendaciones actuales, consideramos niveles suficientes de vitamina D una concentración en suero superior o igual a 50 nmol/l (20 ng/ml) y niveles insuficientes, una concentración inferior a ese valor. Así mismo, está descrita la intoxicación por vitamina D al observar concentraciones superiores a 374 nmol/l (150 ng/ml)⁵².

Recientemente se ha establecido una nueva clasificación que considera niveles normales de vitamina D, a presentar un nivel en el suero de 76-190 nmol/l (30-76 ng/ml), pudiendo hablar de insuficiencia de vitamina D, entre 25-75 nmol/l (10-30 ng/ml) y de deficiencia de vitamina D, por debajo de 25 nmol/l (10 ng/ml)⁵³.

Ross *et al*⁵⁴, del Instituto de Medicina en 2011, publicaron un informe en el que expresaban la urgente necesidad de homologar el método de determinación de la 25 hidroxivitamina D entre los distintos laboratorios, para solventar los problemas derivados de un posible sobretratamiento o infratratamiento de la deficiencia de vitamina D. Así mismo, en cuanto a las recomendaciones actuales de la suplementación de calcio y vitamina D en la dieta, el comité recalcó la evidencia científica del beneficio de la toma de calcio para mantener la salud ósea, con un aporte de **calcio que varía entre 700 y 1300 mg/ día** y un aporte de **vitamina D entre 600 UI y 800 UI** en condiciones de mínima exposición solar, correspondiendo esto a niveles séricos de 50 nmol/l (20 ng/ml), cubriendo así los requerimientos del 97,5% de la población general. En los últimos años se ha investigado el papel de la concentración de calcio y vitamina D en enfermedades como el cáncer, enfermedad cardiovascular, diabetes y enfermedades autoinmunes, aunque los resultados disponibles hasta el momento no son concluyentes.

En cuanto a las causas de deficiencia de vitamina D, sabemos que la poca exposición solar y la falta de ingesta de alimentos son causa de hipovitaminosis D, así como la malabsorción intestinal⁵³. Así mismo, es conocido que el IMC se relaciona inversamente con los niveles de vitamina D. El uso de antiepilépticos y un uso prolongado de esteroides, aceleran el catabolismo de 25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D, por lo que también son causa conocida de hipovitaminosis D.

En la literatura encontramos varios estudios que describen la **deficiencia de la vitamina D en el LES**^{55,56,57,58,59,60,61}. En concreto, Kamen *et al*⁶⁰ en 2006, compara a 123 mujeres lúpicas con 240 controles, encontrando que las pacientes con LES tenían niveles de vitamina D inferiores a las pacientes sanas y que las afroamericanas, presentaban niveles inferiores de vitamina D en comparación con las caucásicas (media 39,75 nmol/l vs 78,25 nmol/l, respectivamente). En este estudio, el 67% de las pacientes presentaban niveles

inferiores a 75 nmol/l (30 ng/ml), observándose niveles inferiores a 25 nmol/l (10 ng/ml) en aquellas pacientes con enfermedad renal o fotosensibilidad. Wu *et al*⁵⁹ en 2009, estudiaron 181 mujeres lúpicas y determinaron una concentración sérica media de vitamina D de 67,75 nmol/l (27.1 ng/ml), donde el 62.2% presentaban niveles inferiores a 75 nmol/l (30 ng/ml). Así mismo, Toloza *et al*⁶¹ en 2010 describieron en una cohorte de 124 mujeres lúpicas la deficiencia de niveles séricos de la 25 hidroxivitamina D, considerando niveles de vitamina séricos inferiores a 80 nmol/l como insuficientes y niveles inferiores a 40 nmol/l como deficientes. Se encontraron niveles insuficientes de 25 hidroxivitamina D en 82 pacientes (66,7%) y niveles deficientes en 22 pacientes (17,9%). Las características relacionadas con el LES examinadas en el momento de la determinación de la vitamina D o la densidad mineral ósea de las pacientes, no mostraron correlación con los niveles de vitamina D en el análisis univariado. Ni la 25 hidroxivitamina D ni la 1,25 dihidroxivitamina D se asociaron con el estado de la densidad mineral ósea de las mujeres lúpicas. El análisis multivariado de regresión logística, puso de manifiesto la asociación de la concentración de 25 hidroxivitamina D con la época estacional, la exposición acumulada de glucocorticoides y la creatinina sérica.

2.1. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Existen estudios en **población general** que relacionan la deficiencia de vitamina D con el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular clásicos y enfermedad cardiovascular. A comienzos de los años 80, empezaron a describirse las primeras hipótesis acerca de cómo la vitamina D podría ser un factor ambiental que explicase las diferencias en los índices de mortalidad por enfermedad cardiovascular de tipo isquémico. Fleck *et al*⁶² observaron que los índices de mortalidad por cardiopatía isquémica aumentaban, conforme se alejaba la población estudiada del Ecuador. En el Reino Unido, Grimes *et al*⁶³ también describió que la

mortalidad por cardiopatía isquémica era inversamente proporcional a la cantidad de horas de luz solar. De hecho, propuso la vitamina D como factor protector CV, regulando los niveles de colesterol sérico o inhibiendo *Chlamydophila pneumoniae*, que se llegó a pensar que era una de las causas de enfermedad coronaria. Douglas *et al*⁶⁴ definieron dicho aumento de la incidencia y mortalidad de los eventos CV en invierno, cuando los niveles de vitamina D son más bajos. Rostand *et al*⁶⁵ añadió que la tensión arterial era mas elevada cuanto más se alejaba uno del ecuador y sugirió que la vitamina D sintetizada podría jugar un papel importante en la regulación de la tensión arterial.

Los trabajos NHANES (National Health and Nutritional Survey) llevados a cabo entre 1988-1994 y 2000-2004 en Estados Unidos le otorgaron un sentido a explorar asociaciones entre los niveles de vitamina D y enfermedad cardiovascular.

En los estudios NHANES llevados a cabo entre 1988-1994, son muchos los factores de riesgo cardiovascular que han sido asociados a deficiencia de vitamina D, tales como: hipertensión, diabetes mellitus, IMC elevado (>30), niveles elevados de triglicéridos y microalbuminuria. Concretamente el grupo de Kendrick *et al*⁶⁶ describió que individuos con niveles deficientes de 25 hidroxivitamina D (inferiores a 50 nmol/l), tenían una prevalencia más alta de episodios de angina, infarto de miocardio y fallo cardiaco, comparado con individuos que tenían niveles de vitamina D más elevados (OR 1,20; IC 1,01-1,36).

En los estudios NHANES realizados entre 2000-2004 se vio que la deficiencia de 25 hidroxivitamina D (< 50 nmol/l) estaba asociada a enfermedad coronaria, fallo cardiaco y enfermedad vascular periférica⁶⁷.

Judd *et al*⁶⁸ determinaron en individuos no hipertensos que provenían del primer estudio NHANES 1988-1994, que niveles óptimos de vitamina D > 80nmol/l (>32 ng/ml), se relacionaban con una reducción del 20% de las cifras de tensión arterial alcanzadas con la

edad. Por el contrario estudios de corte transversal con menor número de pacientes en Alemania y Holanda^{69, 70}, no han podido confirmar ésta asociación entre los niveles de vitamina D y las cifras tensionales alcanzadas con la vejez. Melamed *et al*⁷¹ examinó todas las causas de mortalidad de dichos pacientes y concluyó que aquellos que tenían los niveles de vitamina D más bajos, se atribuían a causa cardiovascular.

Con todo lo expuesto, existe una evidencia epidemiológica importante, que parece sugerir que **la deficiencia de vitamina D se asocia a una mayor probabilidad de sufrir enfermedad cardiovascular.**

Mecanismos propuestos como protectores para la vitamina D en enfermedad CV

El mecanismo por el que la vitamina D podría proteger frente a enfermedad CV no ha sido del todo ilustrado hasta el momento. Se proponen mecanismos que incluyen efectos sobre el eje renina-angiotensina-aldosterona, control de los niveles de glucemia y citoquinas inflamatorias (TNF-alfa, IL-10)⁷², efecto directo sobre la vascularización y regulación de los niveles de PTH y de los depósitos de calcio en el tejido muscular liso.

a) Vitamina D como regulador negativo de la renina

Existe un modelo animal experimental propuesto por Li *et al*⁷³ de la Universidad de Chicago que propuso la vitamina D como un agente antihipertensivo. Su grupo estableció que el bloqueo de los receptores de la vitamina D (VDR) en ratones, provoca una tensión arterial elevada, hipertrofia cardíaca y una sobreactivación del eje renina-angiotensina-aldosterona que puede ser revertido con los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs). El mismo grupo, en otros artículos^{74, 75}, demostró que la 1,25 dihidroxivitamina D inhibe el gen de expresión de la renina, observando además que la administración de nuevos análogos de la vitamina D son capaces de inhibir la expresión del

mismo gen in vitro, estableciendo un posible papel cardiosselectivo de la vitamina D en el tratamiento de la hipertensión.

b) Vitamina D como factor de mejora de la sensibilidad a insulina

En el páncreas se localizan los VDR y la enzima 1-alfa-hidroxilasa y por lo tanto, la maquinaria para convertir la 25 hidroxivitamina D circulante en 1,25 dihidroxivitamina D para trabajar como una hormona autocrina o paracrina. Hay estudios publicados por Norman *et al*⁷⁶ que afirman que los individuos con vitamina D deficiente no son capaces de secretar niveles adecuados de insulina, comparados con grupos control. Por tanto se asocia el déficit de vitamina D con una secreción inadecuada de insulina por una disfunción de la célula beta pancreática o resistencia a la insulina a nivel periférico^{73,77,78}.

Muchos estudios como el de Scragg *et al*⁷⁹ demuestran que niveles bajos de vitamina D se asocian a un mayor riesgo de presentar diabetes. En un estudio longitudinal de hombres y mujeres finlandeses realizado por Mattila *et al*⁸⁰, con un periodo de seguimiento de 17 años, observaron que aquellos que presentaban niveles de vitamina D superiores a 70 nmol/l (28 ng/ml) poseían un 40% menos de probabilidad de desarrollar diabetes. Dicho así, si la vitamina D parecer tener un papel importante como regulador de la glucemia, sería también importante en la prevención de eventos cardiovasculares.

c) Vitamina D como factor directo en tejido cardiaco y vascular

El papel de la vitamina D actuando sobre tejido cardiaco y vascular en respuesta a daño, ha sido evaluado in vivo e in vitro.

A nivel cardiaco, Rahman *et al*⁸¹ demostraron que las metaloproteinasas de la matriz, que contribuyen a la formación de cardiomiocitos aberrantes en el remodelado como respuesta a daño y arteriosclerosis, estaban sobreestimuladas cuando los receptores VDR eran bloqueados. Por tanto, el bloqueo de receptores VDR podría originar una inadecuada

contractibilidad del miocardio⁸² e hipertrofia de ventrículo izquierdo⁸³.

A nivel vascular, la deficiencia de vitamina D se ha relacionado con calcificación coronaria⁷¹. Existe un estudio de corte transversal, de 52 sujetos con enfermedad renal terminal, demostrando una correlación significativamente positiva entre los niveles de vitamina D y la elasticidad arterial (medida en el flujo arterial braquial mediante dilatación) y una correlación negativa con la velocidad de onda de pulso⁸⁴. Ambos hallazgos indican una disminución de la elasticidad vascular. Se ha objetivado que la vitamina D en su forma 1,25 dihidroxivitamina D inhibe marcadores profibróticos in vitro, usando células mesenquimales multipotenciales, sugiriendo que la vitamina D podría tener un efecto directo sobre el tejido vascular en cuanto a respuesta a daño⁸⁵. Así mismo, un trabajo realizado con pacientes diabéticos que han tomado una sola dosis de 100.000 UI de vitamina D, tenían una mejoría significativa en la función endotelial, medido el flujo arterial mediante dilatación y descenso de la presión sanguínea⁸⁶.

En cuanto a la relación entre la **vitamina D y los factores de riesgo cardiovascular en el LES**, se han publicado escasos estudios hasta el momento. Parece lógico aplicar lo descrito en población general a pacientes con LES, al tratarse de un grupo poblacional con deficiencia de vitamina D y riesgo cardiovascular por su enfermedad. El grupo de Wu *et al*⁵⁹ en 2009 ha relacionado una concentración sérica de vitamina D inferior a 75 nmol/l (30 ng/ml) con mayor presión arterial diastólica, colesterol LDL, lipoproteína a, niveles de fibrinógeno, DM y menor colesterol HDL. Así mismo describieron una tendencia a presentar niveles bajos de vitamina D inferiores a 75 nmol/l (30 ng/ml) con presión arterial sistólica elevada, mayor colesterol total, mayor valor de homocisteína, mayor nivel de triglicéridos y mayor valor de proteína C reactiva. Reynolds *et al*⁸⁷ describieron una asociación significativa entre la deficiencia de la vitamina D y un mayor índice de masa corporal, niveles de insulina sérica en ayunas, resistencia a la insulina y una tendencia a presentar niveles mayores de presión

arterial diastólica. En 2012, Mok *et al*⁸⁸ relacionaron significativamente niveles deficientes de vitamina D con mayor colesterol LDL, colesterol total y triglicéridos.

2.2. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES RELACIONADOS CON EL LES

La relación de la concentración de 25 hidroxivitamina D con los factores relacionados con el lupus es controvertida.

En cuanto a la **afectación lúpica**, Irastorza *et al*⁸⁹ describieron que **no existe asociación entre los niveles de 25 hidroxivitamina D y la gravedad de la afectación lúpica**. Hamza *et al*⁹⁰ describieron niveles más bajos de vitamina D en pacientes con fotosensibilidad. En 2011, Szodoray *et al*⁵⁸ mostraron una asociación entre la deficiencia de vitamina D y manifestaciones como pericarditis, enfermedades neuropsiquiátricas y trombosis venosa profunda. La deficiencia de vitamina D también se ha asociado a leucopenia y enfermedad renal⁹¹.

Mok *et al*⁸⁸ afirmaron en 2012 que los niveles bajos de vitamina D se asocian con **síndrome antifosfolípido**.

La asociación entre los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D y la **actividad de la enfermedad** es contradictoria. Algunos autores describieron una asociación inversa de los niveles de 25 hidroxivitamina D con índices más elevados de SLEDAI^{92,59,90,58,88,93}, del mismo modo que se vio esa misma relación cuando se consideró el SLEDAI-2K^{55,87}. En cambio otros autores determinaron que no existe correlación entre la 25 hidroxivitamina D y el SLEDAI^{57,94,95,96}.

En relación al **SLICC/ACR**, Wu *et al*⁵⁹ en 2009 asociaron niveles bajos de 25 hidroxivitamina D a índices más elevados de SLICC/ACR. Sin embargo otros grupos no encontraron relación entre la 25 hidroxivitamina D y el daño orgánico^{57,94,95,88}.

En cuanto a los **anticuerpos en el LES**, en 2008 Thudi *et al*⁹⁷ afirmaron que las pacientes con niveles de vitamina D superiores a 47,7 nmol/l, tenían títulos de ds-DNA mayores. Por el contrario, Bonakdar *et al*⁹⁸ relacionaron la deficiencia de vitamina D con títulos altos de ds-DNA. En 2011, Szodoray *et al*⁵⁸ describieron una asociación inversa de la vitamina D con títulos de ds-DNA, de anti-Sm y de IgG más altos. Mok *et al*⁹⁹ afirmaron que los niveles de 25 hidroxivitamina D correlacionaban de manera inversa con los títulos de anti-dsDNA y antiC1q. Fragoso *et al*⁹⁶ en 2012 no encontraron asociación con los títulos de anti-DNA.

En cuanto al **complemento**, en 2011, Szodoray *et al*⁵⁸ describieron una asociación entre la deficiencia de 25 hidroxivitamina D y niveles más bajos de complemento C4, en cambio Mok *et al*⁸⁸ no objetivaron relación con el complemento.

2.3. 25 HIDROXIVITAMINA D COMO MARCADOR PRECOZ DE ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA

La deficiencia de vitamina D podría tener un papel en el desarrollo de arteriosclerosis subclínica en la **población general** aunque éste mecanismo no se conoce bien en la actualidad.

En la literatura se han relacionado de manera inversa niveles séricos bajos de vitamina D con la presencia de calcificación coronaria¹⁰⁰. Resultados similares se han descrito en estudios realizados con pacientes diabéticos¹⁰¹ y en pacientes dializados¹⁰².

La disfunción endotelial medida por vasodilatación mediada por flujo también es un marcador importante de enfermedad cardiovascular. Niveles bajos de calcidiol y calcitriol se han asociado con disfunción endotelial en pacientes dializados⁸⁴. Así mismo, niveles bajos de calcidiol se han identificado como un factor de riesgo independiente de disfunción endotelial

en pacientes no dializados¹⁰³. En 2009, Reis *et al*¹⁰⁴ publican un trabajo en el que reclutaron a 654 pacientes entre 55 y 96 años sin historia previa de enfermedad cardiovascular y determinaron la concentración sérica de 25 hidroxivitamina D y de 1,25 hidroxivitamina D, así como el grosor íntima-media arterial (Carótida Común y Carótida Interna) por ecografía doppler modo B. En el análisis de los datos, después de realizar un ajuste de los mismos por edad, sexo, tabaquismo, consumo de alcohol, perímetro abdominal, ejercicio, época estacional, diabetes e hipertensión, vieron que el grosor intima media de la carótida interna aumentaba con el incremento de los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D. Esta relación no se encontró al tener en cuenta la concentración de 1,25 hidroxivitamina D ni el grosor intima-media en la carótida común. Sin embargo en el análisis por subgrupos, el nivel sérico de 1,25 hidroxivitamina D se asoció inversamente con el grosor intima-media de la carótida interna en los pacientes con hipertensión arterial. Este autor defiende el papel de la vitamina D en el desarrollo de arteriosclerosis subclínica aunque concluye que serían necesarios estudios con suplementación para tener en cuenta los efectos de la vitamina D a nivel vascular.

Por el contrario, otros grupos de trabajo no encontraron asociación entre la vitamina D y arteriosclerosis subclínica, como Arad *et al*¹⁰⁵ que en 1998 afirmaron que los niveles séricos de 1,25 hidroxivitamina D no correlacionaban con la presencia de calcificación coronaria o como Knox *et al*¹⁰⁶ que describieron recientemente en 2012, que no existe asociación entre la 25 hidroxivitamina D y el grosor íntima-media arterial o la presencia de placa carotídea. No hemos encontrado más estudios que relacionen la acción de la vitamina D con el tamaño de la placa, la estabilidad de la placa o la calcificación vascular.

Dados los resultados contradictorios, el papel de la vitamina D en la arteriosclerosis subclínica continua siendo poco claro por lo que desconocemos si la evidencia a nivel experimental y clínico de la que disponemos pueda deberse a la casualidad¹⁰⁷.

La **asociación de la vitamina D con arteriosclerosis subclínica en el LES**, por el momento también es controvertida.

Algunos autores afirman que **no existe asociación entre ambas**. El trabajo de Wu *et al*⁵⁹ de 2009, fue el primer trabajo que estudió dicha relación y no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la vitamina D y arteriosclerosis subclínica, medida por el grosor intima media arterial, placa carotídea o calcificación coronaria y aórtica. Mok *et al*⁸⁸ en 2011, publicaron un estudio en el que concluyeron que en pacientes con lupus y factores de riesgo CV, la hipovitaminosis D no se relacionaba con la arteriosclerosis subclínica medida por el grosor intima-media carotideo y la presencia de calcificación coronaria.

En cambio, otros grupos de trabajo en pacientes con lupus, afirman que **existe relación entre la deficiencia de vitamina D y la presencia de arteriosclerosis**. Ravenell *et al*¹⁰⁸ vieron que en pacientes lúpicos afroamericanos (grupo poblacional con prevalencia más alta de deficiencia de vitamina D) la hipovitaminosis D se asocia a arteriosclerosis determinada por aumento del área de placa carotídea total (TPA) y a una inactivación de la enzima convertidora de angiotensina, basándose en el modelo explicado anteriormente de la vitamina D como reguladora del eje renina angiotensina aldosterona. Afirmaron que ningún marcador único sería efectivo para predecir enfermedad cardiovascular ni eventos cardiovasculares adversos en pacientes lúpicos, debido a la heterogeneidad de su fenotipo.

Hay estudios que defienden la VOP, como medida de detección de arteriosclerosis subclínica, frente a la determinación del grosor íntima media y la presencia de placa carotídea³⁵. Reynolds *et al*⁸⁷ afirmaban en 2011 que la deficiencia de vitamina D está asociada a un incremento de la rigidez aórtica determinada por la VOP, independientemente de presentar factores de riesgo CV y de los niveles de insulina. El incremento de la actividad inflamatoria de la enfermedad puede que sea el mecanismo por el que el déficit de vitamina D mediasiase la rigidez vascular en este grupo de pacientes.

Por último, el grupo de West *et al*¹⁰⁹ y el de Shao *et al*¹¹⁰ en 2010, han descrito efectos adversos, contribuyendo a la calcificación vascular, de la suplementación con calcio y vitamina D en pacientes con enfermedad renal crónica, lo cual podría extrapolarse a los pacientes lúpicos con afectación renal.

No hemos encontrado ningún trabajo en pacientes con lupus que relacione la suplementación con vitamina D y calcio con la arteriosclerosis subclínica.

2.4. 25 HIDROXIVITAMINA D Y CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES

Las células progenitoras endoteliales se generan en la médula ósea y contribuyen a reparar el endotelio dañado en la arteriosclerosis. No disponemos de estudios sistemáticos sobre la variación del número o vida media de dichas células en condiciones fisiológicas o patológicas¹¹¹. El efecto de factores de riesgo CV, diabetes, infarto agudo de miocardio y daño vascular sobre el número de CPE se ha descrito en la literatura¹¹². Se ha visto una correlación positiva entre el número de células y factores de riesgo CV¹¹³. Mikirova *et al*¹¹⁴ objetivaron en un estudio en población general, una asociación positiva entre la concentración de la vitamina D y las células progenitoras endoteliales determinadas (CD34+KDR+), así como una correlación positiva, entre la vitamina D y células angiogénicas (VEGF R2+, CD105+, CD62E+ y CD144+). El mecanismo por el que la vitamina D podría prevenir el desarrollo de arteriosclerosis en el LES es desconocido. Se piensa que el receptor de la 1,25-hidroxivitamina D, al activarse, aumenta la expresión del factor de crecimiento vascular del endotelio (VEGF) en las células del músculo liso. El VEGF aumenta la actividad en el endotelio de la Sintetasa de Oxido Nítrico y aumenta el número de progenitores de células endoteliales responsables de reparar el endotelio¹¹⁵. Existe un estudio que ha demostrado que la vitamina D podría tener un papel en la proliferación de las células pluripotenciales,

por lo que el aumento de los niveles circulantes de células progenitoras en sujetos con niveles suficientes de vitamina D, podría explicarse por la capacidad de la vitamina D para modular el número de células pluripotenciales y de diferenciar esas células hacia el fenotipo de células progenitoras¹¹⁶. En 2011, se ha publicado un trabajo de Yiu *et al*¹¹⁷ en diabéticos tipo 2, en el que los niveles séricos de la 25 hidroxivitamina D se asociaron positivamente de manera significativa con los niveles de células progenitoras endoteliales circulantes (CD133+KDR+), por lo que la deficiencia de la vitamina D podría contribuir a una disminución de las CPEs y a disfunción endotelial. Por el contrario, en otro trabajo de 2013, realizado por el mismo autor¹¹⁸ y también en diabéticos tipo 2, se vio que suplementando con 5000 UI diarias durante 12 semanas con vitamina D3, no mejoró la función endotelial (medida por velocidad de onda pulso y células progenitoras endoteliales), aunque aumentaron los niveles de vitamina D séricos, descendieron los niveles de PTH séricos y se produjo un leve aumento de los niveles de calcio sérico ($p=0,018$).

Hasta el momento, no hemos encontrado estudios sobre la asociación entre los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D y las células progenitoras endoteliales en el LES.

2.5. SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D Y CALCIO

Según Kamen *et al*¹¹⁹ en 2010, a diferencia de otras vitaminas, una pequeña parte de la vitamina D que ingerimos proviene de la dieta. Hay muchos expertos que han recomendado, aumentar la ingesta de alimentos que contienen esta vitamina para prevenir la deficiencia de la misma¹²⁰. La suplementación con vitamina D se ha recomendado así mismo en los pacientes con LES¹¹⁹. La dosis para mantener la suficiencia de la concentración de 25 hidroxivitamina D en el suero, depende de la concentración sérica de partida. No está clara la dosis a administrar en cada paciente, numerosos estudios han propuesto diferentes

pautas de tratamiento⁵¹. Al considerar la suplementación con vitamina D, hemos de tener en cuenta la variabilidad de respuesta individual y los factores de riesgo de deficiencia de la vitamina D. Se considera que por cada 100 UI diarias de vitamina D3 administradas los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D aumentan en 2,5 nmol/l (1ng/ml)¹²¹.

Es por ello que algunos autores defienden el papel de la suficiencia de vitamina D, en la reducción del riesgo de eventos cardiovasculares. El estudio “Men in the Health Professionals Follow up Study” señala que los hombres que presentaban niveles deficientes de vitamina D inferiores a 37,5 nmol/l (<15 ng/ml) presentaban un mayor índice de riesgo de infarto de miocardio a los 10 años, que aquellos con niveles suficientes de vitamina D ≥ 75 nmol/l (≥ 30 ng/ml)¹²². En un estudio prospectivo de corte longitudinal, se vio que **al suplementar con vitamina D** para tener niveles superiores a 75 nmol/l (30 ng/ml), **se reducía el riesgo** de presentar IAM, enfermedad coronaria, fallo de miocardio, ictus, fracaso renal y muerte¹²³.

Así mismo, la toma adecuada de calcio se ha propuesto no sólo beneficiosa para prevenir fracturas óseas sino también en la hipertensión, hiperlipemia y enfermedades vasculares. La suplementación con calcio se ha asociado a una leve y transitoria disminución de la presión arterial, se ha asociado inversamente a enfermedad vascular y ha demostrado aumentar el colesterol HDL en el 20% de las mujeres postmenopáusicas estudiadas, de manera que el calcio se uniría a ácidos grasos y ácidos biliares, provocando una malabsorción de la grasa y disminuyendo los eventos CV en un 20-30%¹²⁴.

Por otro lado, existen diversos estudios que han demostrado que **el exceso de vitamina D** es tóxico para el tejido vascular y **puede contribuir a calcificación arterial**.

De ahí, que algunos grupos de trabajo^{125,126,127,128}, describan un papel del suplemento de vitamina D y calcio en el infarto de miocardio cuestionando si el tratamiento para la salud ósea no fuese perjudicial, contribuyendo a la calcificación vascular. Bolland *et al*¹²⁹ en 2008

realizó un ensayo clínico con grupo placebo y controles, en el que se evidenció un riesgo aumentado por dos de la incidencia de infarto de miocardio a los siete años en mujeres suplementadas con 1000 mg de citrato cálcico diarios frente al grupo placebo. Hay estudios epidemiológicos descritos en la literatura por Hak *et al*¹³⁰ y Kiel *et al*¹³¹ y otros más recientes^{132,133,134} que han demostrado una asociación inversa entre la salud ósea y la calcificación vascular y la incidencia de efectos cardiovasculares adversos. La concomitancia de la pérdida de masa ósea y el depósito de calcio en los vasos es más complejo que una simple transferencia de calcio del hueso a la arteria¹³⁵. El mecanismo estrecho de regulación de la concentración del calcio en la sangre habla en contra de la hipótesis del depósito pasivo del calcio en las arterias. En las dos últimas décadas se ha ampliado notablemente el conocimiento sobre la patofisiología del calcio en relación al sistema vascular y recambio óseo, pero este conocimiento aún no es completo, sobre todo en relación a sus implicaciones clínicas^{127,136}.

Samelson *et al*¹³⁷ en 2004 publicaron un estudio prospectivo observacional con 690 mujeres y 588 hombres cuyos datos sobre suplementación con calcio y vitamina D fueron recogidos entre 1998 y 2001 y a los que se les realizó un CT coronario a los 4 años. Concluyeron que no apoyan la hipótesis de que la toma de calcio aumente la calcificación coronaria y que la evidencia de la que disponemos en la actualidad, no es suficiente para modificar las recomendaciones en cuanto a la suplementación de vitamina D y calcio en salud ósea, respecto a calcificación vascular. Sin embargo no hacen referencia a la dosis de vitamina D diaria que tomaban estos pacientes, dado que habitualmente se administran de manera conjunta.

Una revisión reciente del Instituto de Medicina⁵⁴ afirma que los ensayos clínicos que describen la toma de calcio y vitamina D como factor de riesgo cardiovascular, no son

concluyentes hasta el momento, probablemente no son comparables por las diferencias en la metodología empleada.

Así mismo, hemos de tener en cuenta la **toxicidad de la vitamina D**¹³⁸. Price *et al*¹³⁹ en el año 2000 y en más trabajos realizados en 2001^{140, 141} ya afirmó que la administración de altas dosis de vitamina D en modelos animales inducía calcificación vascular y de los tejidos blandos. En dichos estudios, la toxicidad de la vitamina dada por la hipercalcemia e hiperfosfatemia, sólo aparecía a dosis suprafisiológicas, por lo que extrapolar, dichos efectos a la suplementación exógena con vitamina D, debe hacerse con precaución. Existe un trabajo de un grupo indio al frente de Rajasree *et al*¹⁴² en 2003 que estudió la relación entre cardiopatía isquémica y niveles séricos de 25 hidroxivitamina D en 143 pacientes con evidencia angiográfica de enfermedad coronaria o infarto agudo de miocardio y 70 controles. Objetivaron que los niveles séricos de la 25 hidroxivitamina D, calcio, fósforo, colesterol total, LDL y triglicéridos estaban elevados en los casos, respecto a los controles. Se observaron niveles séricos de 25 hidroxivitamina D en torno a 225 nmol/l (89ng/ml) en el 59,4% de los casos en comparación al 21% de los controles de manera significativa.

A pesar de ello, hay grupos de trabajo de investigación en la actualidad, que se plantean si los suplementos de calcio y vitamina D actuales para el mantenimiento de la salud ósea, no podrían perjudicar la salud vascular, tales como el del estadounidense Slovik *et al*¹⁴³ que ha recomendado a los pacientes estimar la cantidad de calcio diaria que adquieren en la dieta y conociendo esas cifras, suplementarlas para que no tenga lugar un exceso de calcio mediante suplementos farmacológicos.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Estudios epidemiológicos sugieren que los pacientes con LES tienen más enfermedad cardiovascular que la población general y se ha demostrado que los factores de riesgo por sí solos, no explican el gran incremento de la incidencia de eventos vasculares. El LES por sí mismo constituye un factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad cardiovascular y está asociado a una mayor prevalencia de daño vascular subclínico, arteriosclerosis y cardiopatía isquémica.

Existen estudios que relacionan la deficiencia de vitamina D con el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular clásicos y enfermedad cardiovascular.

Hay pocas referencias en la literatura sobre los niveles séricos de vitamina D en pacientes con LES y la asociación entre los niveles de vitamina D, los factores de riesgo cardiovascular y el desarrollo de complicaciones CV en pacientes con LES, por lo que la hipótesis que se planteó en este estudio es la siguiente:

“La deficiencia de vitamina D en el LES, podría asociarse a factores de riesgo cardiovascular, factores relacionados con la enfermedad y arteriosclerosis subclínica”.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo ha sido evaluar la utilidad clínica de la estimación de los niveles de 25 hidroxivitamina D séricos en los pacientes con LES y su relación con los factores de riesgo cardiovascular, con la actividad de la enfermedad y con arteriosclerosis subclínica.

Para ello, se han planteado los siguientes objetivos concretos:

- Determinar los niveles de 25 hidroxivitamina D en pacientes con LES.
- Valorar la relación entre los niveles de 25 hidroxivitamina D con los factores de riesgo cardiovascular, marcadores de inflamación, parámetros clínicos, actividad de la enfermedad y con los distintos tratamientos que están recibiendo los pacientes.
- Estudiar la asociación entre los niveles de 25 hidroxivitamina D con arteriosclerosis subclínica determinada por la velocidad de la onda del pulso arterial (VOP) y el grosor intima media de las arterias (GIM).
- Valorar si los niveles de 25 hidroxivitamina D tienen relación con marcadores biológicos de arteriosclerosis subclínica: número de células apoptóticas circulantes y de células progenitoras endoteliales.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. PACIENTES

Se incluyeron en el estudio cuarenta y siete mujeres diagnosticadas de LES, con una mediana de edad de 48,8 años (rango 21-65), procedentes de la Unidad de Enfermedades Autoinmunes del Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Puerta de Hierro de Majadahonda. La media de duración de la enfermedad era de $10,85 \pm 7,90$ años. Todas las pacientes cumplían al menos cuatro criterios del American College of Rheumatology (ACR) para la clasificación de LES (tabla 1).

Tabla 1. Criterios de la ACR para la clasificación de LES.

Criterio	Definición
1. Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, tendiendo a expandirse a los pliegues nasolabiales.
2. Eritema discoide	Placas elevadas eritematosas con descamación queratósica adherente y taponamiento folicular. Pueden quedar cicatrices atróficas en lesiones antiguas.
3. Fotosensibilidad	Eritema en la piel como resultado de una reacción inusual a la luz solar.
4. Úlceras orales	Ulceración oral o nasofaríngea, normalmente sin dolor, observada por un especialista.
5. Artritis	Artritis no erosiva afectando a 2 o más articulaciones periféricas, caracterizadas por dolor, tumefacción o derrame.
6. Serositis	a) pleuritis: historia convincente de dolor pleurítico o roce oído por un especialista o evidencia de derrame pleural. b) pericarditis: documentada por electrocardiograma, roce o evidencia de derrame pericárdico.
7. Alteración renal	a) proteinuria persistente $>0,5\text{gr}/\text{día}$ ó $>3+$ si no se cuantifica. b) cilindros celulares: deben ser células rojas, hemoglobina. Pueden ser granulares, tubulares o mixtos.
8. Alteración neurológica	a) convulsiones. b) psicosis. Ambos en ausencia de fármacos o alteraciones metabólicas conocidas como uremia, cetoacidosis o alteraciones de electrolitos.
9. Alteración hematológica	a) anemia hemolítica con reticulocitosis. b) leucopenia $<4.000/\text{mL}$ en 2 ó más ocasiones. c) linfopenia $<1.500/\text{mL}$ en 2 ó más ocasiones. d) trombopenia $<100.000/\text{mL}$ en ausencia de fármacos.
10. Alteración inmunológica	a) célula LE positiva. b) anticuerpos anti-DNA nativo con un título anormal. c) anticuerpos contra el antígeno nuclear Sm. d) test falso positivo para sífilis, siendo positivo durante al menos seis meses y confirmado por inmovilización de <i>treponema pallidum</i> o test de absorción con anticuerpo treponémico fluorescente.
11. Anticuerpos antinucleares	Título anormal de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia o una técnica equivalente, en cualquier momento y en ausencia de fármacos asociadas a “lupus inducido por fármacos”.

Todas las pacientes firmaron un consentimiento informado para participar en el estudio, el cual fue aprobado por el Comité de Ética del hospital.

2. PROTOCOLO Y DISEÑO

Se trata de un estudio de corte transversal que durante 14 meses (Abril 2011—Junio 2012) reclutó 47 pacientes diagnosticadas de LES que acudían a consultas para revisiones periódicas. La mayor parte de las pacientes fueron estudiadas en los meses de primavera.

A todas las participantes se les realizó una historia clínica y una exploración física completa que incluía peso, talla, índice de masa corporal (IMC), circunferencia abdominal, tensión arterial (TA) y frecuencia cardíaca. Para la medida de TA, se empleó esfigmomanómetro manual y se realizaban dos tomas, una al principio de la consulta y otra al final, obteniéndose después la media de las dos tomas.

Se les extrajo una analítica de sangre para la determinación de parámetros bioquímicos e inmunológicos tras un ayuno de al menos 8 horas, utilizando las técnicas habituales. Los análisis se realizaban en el laboratorio del Servicio de Bioquímica e Inmunología de nuestro hospital.

Se obtuvieron además otros parámetros demográficos y clínicos de la revisión de las historias clínicas y con todo ello se diseñó una base de datos.

2.1 FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

En la analítica de sangre extraída se incluía la determinación de glucosa (valores normales según nuestro laboratorio: 60-100 mg/dl), hemoglobina glicosilada (4,5-6,3%), colesterol total (150-200 mg/dl), colesterol LDL (70-160 mg/dl), colesterol HDL (45-90mg/dl), triglicéridos (30-200 mg/dl), ácido úrico (2,5-6 mg/dl), creatinina (0,5-0,9 mg/dl), urea (21-50 mg/dl), cociente microalbúmina/creatinina (30-299 mg/g).

A las pacientes se les preguntó por su hábito tabáquico y se clasificaron en no fumadoras (nunca fumadoras o ex fumadoras ≥ 6 meses) y fumadoras (independientemente del número de cigarrillos).

Se definió hipertensión arterial (HTA) cuando la TA sistólica (TAS) ≥ 140 mmHg o TA diastólica (TAD) ≥ 90 mmHg o la paciente estuviera en tratamiento con antihipertensivos. Se consideró diabetes mellitus cuando la paciente estaba bajo tratamiento con antidiabéticos orales o insulina o si la glucemia en ayunas era ≥ 126 mg/dl en dos determinaciones y/o hemoglobina glicada $>6.5\%$. Glucemia alterada en ayunas se definió como la glucemia en ayunas entre 100-125 mg/dl. Hipercolesterolemia se definió como colesterol total ≥ 190 mg/dL o LDL colesterol ≥ 115 mg/dL o tratamiento con hipolipemiantes. Hipertrigliceridemia se definió como una cifra de triglicéridos ≥ 150 mg/dl o tratamiento hipolipemiante.

La historia familiar de enfermedad cardiovascular se consideró cuando el paciente tenía un familiar de primer grado que hubiese sufrido un infarto de miocardio o ictus antes de los 55 años en hombres o 65 años en mujeres.

Se calculó la existencia de síndrome metabólico siguiendo las definiciones usadas por el ATP III (Adult Treatment Panel, 2001). De acuerdo con estas definiciones, se consideró presencia de síndrome metabólico, si las pacientes cumplían 3 o más de los siguientes criterios:

- Circunferencia abdominal mayor de 88 cm en mujeres.
- TAS mayor o igual a 130 mmHg o TAD mayor o igual a 85 mmHg o toma de medicación antihipertensiva.
- HDL-Col menor de 50 mg/dl en mujeres.
- Triglicéridos (TG) mayor o igual a 150 mg/dl.
- Glucosa en ayunas mayor o igual a 110 mg/dl.

También se calculó el HeartScore® que estima el riesgo de muerte cardiovascular a 10 años incluyendo infarto e ictus mortal, basado en la edad, el sexo, el tabaquismo, la presión arterial, el colesterol total en sangre o la razón colesterol total/colesterol-HDL. El modelo de cálculo está basado en el proyecto SCORE de Conroy *et al*¹⁴⁴ de 2003, que incluye más de 200.000 individuos. Los modelos nacionales se basan en la colaboración de esa función con las estadísticas locales de mortalidad. Para el cálculo se utilizó la aplicación disponible en la página web: <http://www.heartscore.org/es/>.

Se determinaron varios marcadores inflamatorios, como otros marcadores de riesgo cardiovascular, la proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCR-us) (inmunoturbimetría, 0-1 mg/l), homocisteína (nefelometría, 4,6-12,5 µmol/l), dímero D (inmunoturbidimetría, 0,1-0,5 µg/l), fibrinógeno (método derivativo, 150-450 mg/dl).

2.2 FACTORES RELACIONADOS CON EL LES

Para cada uno de los pacientes se valoró el grado de actividad de la enfermedad teniendo en cuenta cada descriptor recogido en el formulario del “Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index” (SLEDAI) descrito por Bombardier *et al*¹⁴⁵ en 1992 (tabla 2).

Tabla 2. Formulario del índice de actividad de la enfermedad en LES (SLEDAI)

Valor	Descriptor	Definición
8	Crisis epiléptica	Episodio reciente. Excluir causas metabólicas, infecciosas o inducidas por fármacos.
8	Psicosis	Incapacidad para la actividad normal por alteración de la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, pérdida marcada de asociación, pensamiento empobrecido o ilógico, comportamiento raro, desorganizado o catatónico. Excluir uremia o inducción por fármacos.
8	Síndrome orgánico cerebral	Función mental alterada con disminución en la orientación, memoria u otras funciones intelectuales, de rápida aparición y características fluctuantes. Incluye aturdimiento de la conciencia con capacidad reducida para la concentración e incapacidad para mantener la atención, más al menos dos de las siguientes características: alteración de la percepción, habla incoherente, insomnio o somnolencia diurna, actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas metabólicas, infecciosas o inducidas por fármacos.
8	Alteración visual	Cambios en la retina. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudado seroso o hemorragias en la coroides o neuritis óptica. Excluir hipertensión, infección o inducción por fármacos.
8	Alteración del nervio craneal	Nueva aparición de neuropatía sensorial o motora, implicando a los pares craneales.
8	Cefalea lúpica	Dolor de cabeza grave y persistente. Puede ser migrañoso, pero no debe responder a analgesia narcótica.
8	ACVA	Nuevo accidente cerebrovascular. Excluir arteriosclerosis.
8	Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos en los dedos, infarto periungueal, hemorragias en astilla o biopsia o angiograma con vasculitis probada.
4	Artritis	Más de dos articulaciones con dolor y signos de inflamación (tumefacción o derrame).
4	Miositis	Dolor/debilidad muscular proximal, asociado con elevación de CPK/aldolasa o cambios electromiográficos o biopsia demostrando miositis.
4	Cilindros urinarios	Cilindros celulares hemo-granulares o eritrocitarios.
4	Hematuria	>5 hematíes/campo. Excluir cálculos, infección u otras causas.
4	Proteinuria	> 0,5 g /24h. Nuevo episodio o incremento reciente de > 0,5g/24h
4	Piuria	> 5 leucocitos/campo. Excluir infección.
2	Nuevo eritema	Nuevo episodio o recurrencia de eritema de tipo inflamatorio.
2	Alopecia	Nuevo episodio o recurrencia de pérdida de pelo anormal, en mechones o difuso.
2	Úlceras mucosas	Nuevo episodio o recurrencia de ulceración oral o nasal.
2	Pleuritis	Dolor torácico pleurítico con roce, derrame, o engrosamiento pleural.
2	Pericarditis	Dolor pericárdico con al menos una de las siguientes características: roce, derrame, o confirmación mediante ECG o ecocardiograma.
2	Complemento bajo	Disminución de CH50, C3 o C4 por debajo del límite inferior normal según el laboratorio.
2	Aumento de unión de ADN	> 25% de unión por el ensayo de Farr, o por encima del rango normal según el laboratorio.
1	Fiebre	> 38°C. Excluir infección.
1	Trombocitopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³ .
1	Leucopenia	< 3.000 leucocitos/mm ³ . Excluir la causada por fármacos.

Se consideró enfermedad no activa aquellos pacientes con SLEDAI ≤ 4 y enfermedad activa con un SLEDAI >4 .

También se valoró el tipo de afectación lúpica (cutánea, visceral, mixta).

El daño orgánico se evaluó mediante el “Systemic Lupus Internacional Collaborating Clinics/ American Collage of Rheumatology Damage Index” (SLICC/ACR) descrito por Gladman *et al*¹⁴⁶, en 1996 que incluye una evaluación de 12 órganos que se detalla en la tabla 3. Se consideró que no había daño cuando el SLICC/ACR es igual a 0 y daño un SLICC/ACR ≥ 1 .

Se registró cualquier tratamiento específico del LES que la paciente hubiese recibido en los últimos 3 meses, denominándolo tratamiento actual. El tratamiento más habitual son los antimaláricos y los inmunosupresores. Para el estudio se establecieron dos categorías en los pacientes tratados, con y sin tratamiento inmunosupresor, definiendo tratamiento inmunosupresor como la toma habitual de alguno de los siguientes: corticoides, micofenolato de mofetil, ciclosporina, azatioprina, ciclofosfamida o metotrexate.

En la analítica extraída a todas las pacientes se incluía un hemograma completo y pruebas inmunológicas relacionadas con el LES, como la velocidad de sedimentación globular (0-25 mm), niveles de C3 (90-180mg/dl), C4 (10-40mg/dl), anticuerpos antinucleares (inmunofluorescencia, ANA, positivos $\geq 1/40$), anticuerpos anti-DNA (ELISA, positivo >15), anticuerpos anti-ENA (ELISA), anticoagulante lúpico (veneno de víbora de Russell, ratio confirmatorio 0-1,12), anticuerpos anticardiolipina (ELISA; IgM, IgG; positivo si >18 U/ml) y anticuerpos anti- $\beta 2$ glicoproteína 1 (ELISA; IgM, IgG; positivo si >8 U/ml).

Tabla 3. Formulario del índice de daño acumulado en LES (SLICC/ACR)

Órgano afectado	Valor	Definición
Ocular	1	Cataratas, cambios en la retina o atrofia óptica.
Neuropsiquiátrico	1	Déficit cognitivo (déficit de memoria, dificultad para el cálculo, concentración disminuida, dificultad para hablar o escribir) o psicosis mayor.
	1	Convulsiones necesitando tratamiento al menos 6 meses.
	1(2)	Accidente cerebrovascular (puntuación de 2 si más de 1 episodio).
	1	Neuropatía craneal o periférica (excluyendo óptica).
	1	Mielitis transversa.
Renal	1	Filtrado glomerular estimado o medido < 50%.
	1	Proteinuria $\geq 3,5$ g/24h.
	3	Enfermedad renal terminal.
Pulmonar	1	Hipertensión pulmonar.
	1	Fibrosis pulmonar (examen físico o radiológico).
	1	Pérdida de volumen pulmonar (radiológico).
	1	Fibrosis pleural (radiológico).
	1	Infarto pulmonar (radiológico).
Cardiovascular	1	Angina o bypass coronario.
	1(2)	Infarto de miocardio (puntuación de 2 si más de 1 episodio).
	1	Miocardiopatía con disfunción ventricular.
	1	Valvulopatías (soplo diastólico o sistólico >3/6).
	1	Pericarditis con tratamiento >6 meses o pericardiectomía.
Vascular periférico	1	Claudicación >6 meses.
	1	Pérdida de tejido menor (ulceración de pulpa de los dedos) por mala circulación periférica.
	1(2)	Pérdida de tejido significativa (pérdida de dedos) por mala circulación periférica.
	1	Trombosis venosa con ulceración, inflamación o estasis venoso.
	1	Infarto o resección de parte del intestino, bazo, hígado o vesícula por cualquier causa.
Gastrointestinal	1	Angina mesentérica.
	1	Peritonitis crónica.
	1	Estenosis esofágica o cirugía del tracto gastrointestinal superior.
	1	Debilidad o atrofia muscular.
Musculoesquelético	1	Artritis erosiva o deformante.
	1	Osteoporosis con fractura o colapso vertebral.
	1(2)	Necrosis avascular (puntuación de 2 si más de 1 articulación).
	1	Osteomielitis.
Piel	1	Alopecia cicatricial.
	1	Cicatrices extensas o paniculitos distintas al cuero cabelludo o pulpa.
	1	Ulceración de la piel (excluyendo trombosis) por más de 6 meses.
Fallo gonadal prematuro	1	
Diabetes	1	O necesidad de tratamiento
Cáncer	1(2)	Excluyendo displasia (puntuación de 2 si más de 1).

3. DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D EN EL SUERO

Se determinó la concentración de 25 hidroxivitamina D por cromatografía líquida ultra sensible (ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC)) en el suero de todos los pacientes. Esta técnica permite la determinación rápida y de bajo coste de la 25 hidroxivitamina D¹⁴⁷. Este método muestra una imprecisión adecuada (CV<10%) y una buena linealidad en todo el rango fisiológico (<4-150 ng/ml). La validez de la metodología se comprobó usando muestras externas de un programa internacional de control de calidad (Vitamin D External Quality Assessment Scheme-DEQAS, Charing Cross Hospital, London, UK).

En la literatura, según las recomendaciones actuales, se establece que la deficiencia de vitamina D equivale a presentar niveles de 25 hidroxivitamina D séricos inferiores a 50 nmol/l (20 ng/ml)⁵¹, por lo que en nuestro estudio se consideraron niveles suficientes de vitamina D a una concentración en el suero superior o igual a 50 nmol/l (20 ng/ml) y niveles insuficientes a concentraciones inferiores a 50 nmol/l (20 ng/ml).

4. PROCEDIMIENTOS DE DETECCIÓN DE ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA

4.1. CUANTIFICACIÓN DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (GIM)

A cada una de las pacientes se les realizó un estudio ecográfico modo B de ambos territorios carotídeos cervicales en el Laboratorio de Hemodinámica Cerebral perteneciente al Servicio de Neurología del Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Para ello se utilizó un ecógrafo Philips modelo IU22 equipado con EcoDoppler Color y cuantificación automática de GIM.

Con la paciente en decúbito supino, se realizó un estudio transversal y longitudinal de la arteria carótida común, bifurcación carotídea, bulbo carotideo y el segmento proximal de las arterias carótidas externa e interna (los primeros 15 mm), bilateralmente.

En cada sujeto se determinó el GIM en tres diferentes localizaciones de cada arteria carótida común a una distancia de más de 1 cm de la bifurcación, para evitar la existencia de engrosamientos de origen mecánico/turbulento. La cuantificación del GIM se realizó de forma automática mediante el Software perteneciente al propio equipo diseñado específicamente para el estudio de este marcador vascular.

Para el cálculo del valor medio del GIM, se hicieron las medias matemáticas de las tres determinaciones de cada arteria carótida común y posteriormente se tomó como valor de cada paciente la cifra media entre los valores de ambos lados.

Las determinaciones fueron realizadas siempre por la misma persona y en el mismo día de exploración para cada paciente.

4.2. MEDIDA DE LA ELASTICIDAD ARTERIAL MEDIANTE VELOCIDAD DE ONDA DE PULSO (VOP).

La elasticidad arterial puede ser medida directamente y de forma no invasiva en varias zonas del árbol arterial. La mayor ventaja de éstas medidas no invasivas es que están basadas en mediciones directas de parámetros fuertemente relacionados con la elasticidad de la pared como es la velocidad de propagación de la onda de presión originada en la aorta proximal por la eyección del ventrículo izquierdo. La aorta es el mejor vaso cuando queremos determinar la elasticidad arterial por al menos dos razones:

- La aorta torácica y abdominal tienen la mayor contribución a la propagación de la onda de presión.
- La VOP aórtica es un predictor independiente de eventos vasculares en una variedad amplia de población¹⁴⁸.

La medida de la VOP aórtica o en el segmento carótido-femoral (desde la carótida común en región supraclavicular a la arteria femoral en el pliegue inguinal) es aceptada de forma general como el método más simple, no invasivo y reproducible para determinar la elasticidad arterial por su relación matemática con el Modulo de Elasticidad arterial según la

Fórmula de Korteweg:

$$VOP = \sqrt{(E * e / D * \rho)}$$

Donde: **VOP** en cm/s

E es el módulo de elasticidad (Módulo de Young) en dinas/cm²

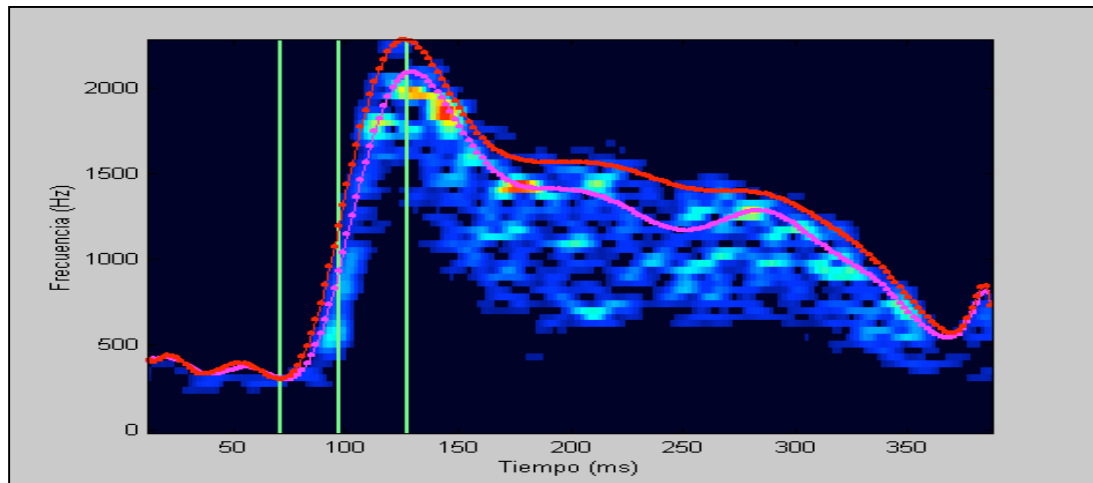
e es el espesor de la arteria.

D es el diámetro interior.

ρ es la masa específica del fluido (1,05 para la sangre).

La VOP carótido-femoral ha sido usada en estudios epidemiológicos demostrando el valor predictivo de la elasticidad aórtica para eventos cardiovasculares por lo que se considera el “gold standard” para la medida de la elasticidad arterial.

En nuestro estudio, para el **cálculo de la VOP** se dispuso de un prototipo de Software de análisis morfo-temporal¹⁴⁹ para análisis de onda con Velocimetría Doppler, que nos permite conocer el tiempo de llegada en cualquier punto arterial del pie de la onda de velocidad Doppler a partir de la onda R del electrocardiograma (EKG). De este modo, mediante la resta de ambos tiempos, se calcula la diferencia en tiempos que tarda la onda de presión en recorrer el segmento arterial comprendido entre los puntos carotideo y femoral determinados. Los valores se promediaron de 15 señales consecutivas en cada toma (Figura 2).

Figura 2. Registro representativo de la onda de velocidad doppler en una paciente.

La distancia entre los puntos de muestreo carotideo y femoral se determina mediante cinta métrica desde el manubrio esternal hasta la cicatriz umbilical, sumándole la distancia entre este último punto y el punto de determinación de la señal en la femoral en el pliegue inguinal.

Una vez calculada la diferencia de tiempo de tránsito de la onda de pulso entre carótida común y arteria femoral, y conocida la distancia entre dichos puntos, la VOP se calcula dividiendo el espacio recorrido en centímetros por el tiempo de tránsito en milisegundos. El valor de la VOP se expresa en metros por segundo.

Antes de la realización del procedimiento, se indicaban a los pacientes una serie de condiciones para la correcta realización de la prueba:

- Temperatura de la habitación: $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Hora del día: siempre a la misma hora.
- No fumar ni comer al menos desde 3 horas antes del estudio.
- No consumir alcohol al menos desde 10 horas antes del estudio.
- No hablar durante el procedimiento.
- Posición: decúbito supino.

5. DETERMINACIÓN DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES Y CÉLULAS ENDOTELIALES APOPTÓTICAS CIRCULANTES

De cada paciente se extrajeron 20 ml de sangre venosa en tubos Venoject con 150 U de heparina de litio (Terumo Europe N.V.) de los que se aislaron las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) mediante centrifugación (400g, 30 minutos a temperatura ambiente) en un gradiente de densidad sobre Ficoll-Hypaque (Lymphoprep TM, Axis Shield PoC AS) en las tres horas posteriores a su extracción. La identificación de las diferentes subpoblaciones celulares se realizó mediante inmunofluorescencia directa y análisis por citometría de flujo de la expresión diferencial de moléculas específicas en la superficie celular.

La identificación de las células endoteliales apoptóticas se realizó incubando las CMSP obtenidas de cada paciente con el anticuerpo anti-CD146 (P1H12) conjugado con ficoeritrina (PE) (BD Pharmingen). Este marcador permite identificar específicamente las células endoteliales y es especialmente útil cuando se usa en combinación con otros anticuerpos monoclonales, como anti-CD45/anti-CD3 conjugados con alofococianina (APC), para excluir la subpoblación de linfocitos T activados que recientemente se ha descrito expresan CD146 en la superficie celular¹⁵⁰. Simultáneamente, se realizó un marcaje con los correspondientes controles isotipo que determinan las uniones inespecíficas de los anticuerpos. Se valoró la apoptosis incubando las células con Anexina V conjugada con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (BD Pharmingen) y 7-aminoactinomicina D (7-AAD) para excluir las células necróticas. El análisis de los datos se llevó a cabo con un citómetro FACScalibur y con el software FACSDiva (BD Bioscience). Se consideraron células endoteliales apoptóticas las dobles positivas para el marcaje realizado (CD146+AnexV+) en la región de células con marcaje negativo para CD45/CD3 y 7-AAD. Los resultados se expresaron como porcentajes en base al conteo de CMSP.

Las células progenitoras endoteliales (CPE) se han definido como una subpoblación celular que coexpresan los marcadores CD34, VEGFR-2 (KDR en humanos) y CD133. El marcador CD34 lo expresan todas las células progenitoras hematopoyéticas. La expresión del antígeno CD133 parece estar restringida a las CPE más tempranas y se pierde durante el proceso de maduración a células endoteliales. Debido a que la frecuencia de las CPE en la sangre periférica es muy baja (alrededor del 0.4% del total de la población CD34+ y 0.002% del total de las CMSP)¹⁵¹, se realizó previamente un enriquecimiento en precursores CD34+ por un sistema de selección inmunomagnética (EPC Enrichment and Enumeration Kit, Miltenyi Biotec). Posteriormente, la fracción enriquecida de células CD34+ se incubó con suero bloqueante del receptor Fc que inhibe las uniones inespecíficas y con el siguiente cóctel de anticuerpos a las concentraciones recomendadas por el fabricante: anticuerpos anti-CD34 (FITC), anti-CD133/2 (293C3) (PE), anti-CD14 (PE-Cy5) y anti-KDR (APC) o con los correspondientes controles isotipo. También se añadió a la suspensión celular un colorante vital como el ioduro de propidio (IP) que permite excluir del análisis las células necróticas. El análisis de los datos se llevó a cabo con un citómetro FACScalibur y con el software FACSDiva (BD Bioscience) siguiendo las recomendaciones para la detección y cuantificación de CPE con esta metodología¹⁵².

Se consideraron células progenitoras endoteliales las triples positivas para el marcaje realizado (CD34+CD133+KDR+) y negativas para el marcaje con CD14 e IP. Del mismo modo, se cuantificó la subpoblación de células progenitoras endoteliales en un estado de maduración avanzado como las células CD34+KDR+CD133- en la región con marcaje negativo para CD14 e IP. Los resultados obtenidos en cada paciente se expresaron como porcentajes en base al conteo de CMSP.

6. METODOLOGIA ESTADÍSTICA

Las variables se describen en tablas con porcentajes y medias, según el tipo de variable. Las variables cuantitativas se resumen con su media y su desviación estándar (DE) o intervalo de confianza al 95% (IC 95%) o bien con la mediana y el rango intercuartílico en caso de presentar una dispersión elevada. En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a los modelos teóricos. Se realizó un análisis de normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov.

Se empleó la prueba t de student en el caso de comparación de dos muestras de variables continuas y la prueba de Mann-Whitney para el mismo tipo de datos si se rechazan dichas hipótesis. Para comparar las variables categóricas se utilizó la prueba χ^2 normal o χ^2 corregida por Yates en el caso de frecuencias esperadas menores a 5.

Para todas las pruebas se aceptó un valor de significación estadística inferior a 0,05 en contraste bilateral. Los estudios comparativos se realizaron con el programa estadístico SPSS V.15.0 (Statistical Package for Social Science for Windows).

RESULTADOS

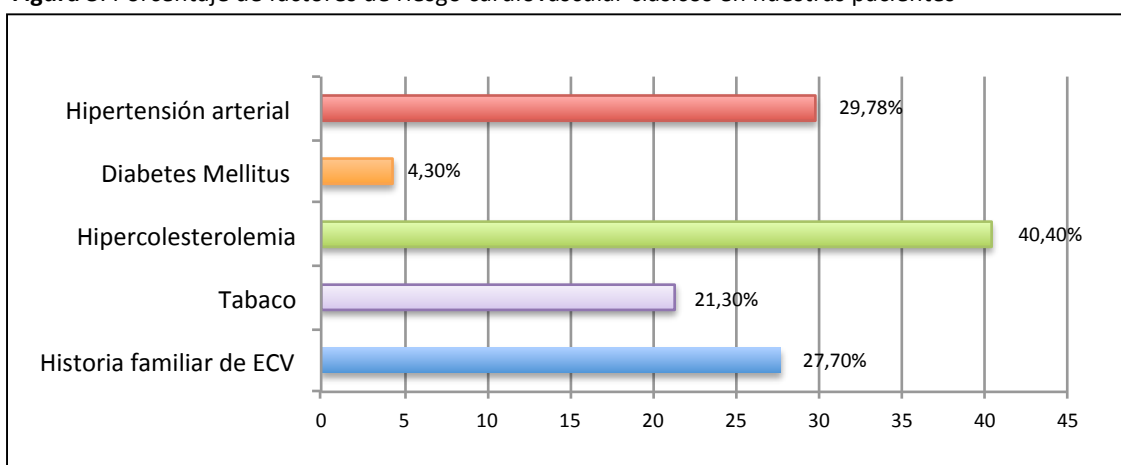
1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS PACIENTES

Las características clínicas, los factores de riesgo cardiovascular, así como los factores relacionados con la actividad lúpica de nuestra serie de cuarenta y siete pacientes, se describen a continuación:

1.1. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

El factor de riesgo cardiovascular más frecuente objetivado en nuestras pacientes fue la hipercolesterolemia, seguido de la hipertensión arterial, historia familiar de enfermedad cardiovascular, tabaquismo, y por último la diabetes (figura 3).

Figura 3. Porcentaje de factores de riesgo cardiovascular clásicos en nuestras pacientes



Valores mostrados como porcentajes.

En relación al número de factores de riesgo clásicos, diez pacientes no tenían ningún factor, trece pacientes presentaban un factor de riesgo, once pacientes presentaban dos, siete pacientes presentaban tres, cinco pacientes presentaban cuatro factores de riesgo y tan solo un paciente presentaba los cinco factores de riesgo.

Otros factores relacionados con riesgo cardiovascular registrados fueron la presencia de síndrome metabólico y el cálculo del HeartScore®. El porcentaje de síndrome metabólico encontrado en la muestra fue de 25,5% y el riesgo cardiovascular calculado por el HeartScore® era bajo, el 76,6% de las pacientes tenían un riesgo de 1% de muerte cardiovascular en los siguientes 10 años.

Los factores de riesgo clásicos de nuestras pacientes se resumen en la tabla 4.

Tabla 4. Características basales de los pacientes en cuanto a factores de riesgo

Pacientes (N=47)	Valor obtenido	Valor referencia
Índice de masa corporal (Kg/m ²)	25,54 ± 3,99	18,5-25
Circunferencia abdominal (cm)	80,51 ± 9,82	88
TA sistólica (mmHg)	121,00 ± 13,60	120
TA diastólica (mmHg)	75,62 ± 9,53	80
Glucemia basal (mg/dl)	95,11 ± 21,77	60-100
Colesterol total (mg/dl)	175,94 ± 37,13	150-200
Colesterol LDL (mg/dl)	97,89 ± 30,19	70-160
Colesterol HDL (mg/dl)	57,17 ± 21,68	45-90
Triglicéridos (mg/dl)	100,23 ± 66,46	30-200
Ácido úrico (mg/dl)	4,91 ± 1,95	2,5-6
Creatinina (mg/dl)	0,79 ± 0,27	0,5-0,9
Urea (mg/dl)	41,77 ± 23,22	21-50
Aclaramiento de Creatinina (ml/min)	92,67 ± 35,89	≥90
Microalbúmina/Creatinina (mg/g)	112,52 ± 343,98	30-299
PCR-us (mg/l)	2,56 ± 5,56	0-1
Homocisteína (μmol/l)	12,42 ± 5,26	4,6-12,5
Dímero D (μg/l)	0,54 ± 0,39	0,1-0,5
Fibrinógeno (mg/dl)	361,79 ± 85,31	150-450
Síndrome metabólico (%)	25,50	28
Heart Score®=1 (%)	76,60	≤1

Valores mostrados como media ± desviación estándar o porcentajes. TA: tensión arterial. PCR-us: proteína C reactiva ultrasensible.

En cuanto al tratamiento recibido por los factores de riesgo cardiovascular que presentaban nuestras pacientes, quince (31,91%) de las diecinueve pacientes con dislipemia tomaban estatinas. El 29,78% de nuestras pacientes eran hipertensas y once (23,40%) tomaban IECAS/ARAII. Diecinueve pacientes (40,42%) recibían tratamiento antiagregante con ácido acetilsalicílico y tan sólo una paciente (2,12%) con clopidogrel.

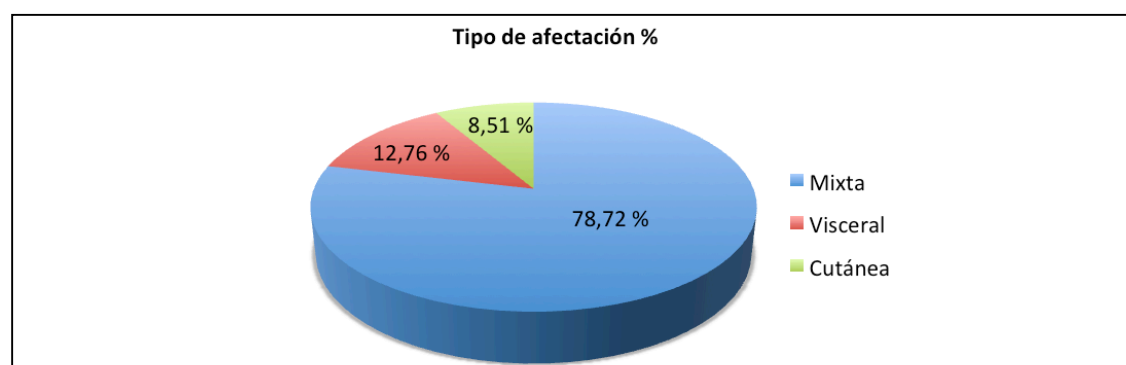
1.2. FACTORES RELACIONADOS CON EL LES

La enfermedad de nuestras pacientes viene determinada por su tipo de afectación sistémica, la actividad de la misma en el momento del estudio y por el daño orgánico acumulado a lo largo de los años desde que fueron diagnosticadas.

La media de la duración de la enfermedad era de $10,85 \pm 7,90$ años y 22 pacientes (46,80%) llevaban más de 10 años diagnosticadas de LES.

En relación al tipo de afectación del LES, treinta y siete pacientes (78,72%) presentaron afectación mixta (cutánea y visceral), seis pacientes (12,76%) afectación exclusivamente visceral y cuatro pacientes (8,51%) afectación cutánea aislada. Catorce pacientes (29,80%) presentaron afectación renal (tres exclusivamente renal y once renal y cutánea) (Figura 4).

Figura 4. Tipo de afectación de las pacientes



Valores mostrados como porcentajes.

Treinta y seis pacientes (76,59%) presentaban una enfermedad no activa, SLEDAI ≤ 4 y nueve pacientes (19,14%) se encontraban con un valor de SLEDAI comprendido entre 5 y 26. Hubo dos pacientes que desconocemos el grado de actividad que tenían.

Diez pacientes no tenían daño orgánico (SLICC= 0) y treinta y siete pacientes tenían un SLICC comprendido entre 1 y 6.

Las características clínicas del LES, los parámetros bioquímicos e inmunológicos y los tratamientos se resumen en la tabla 5:

Tabla 5. Características basales de los pacientes

Pacientes (N=47)	Valor obtenido	Valor referencia
Leucocitos (x μ l)	5,44 \pm 2,03	4.0-11.5
Linfocitos (x μ l)	1,62 \pm 0,59	1.2-4.0
Plaquetas (x μ l)	212,19 \pm 68,12	150-400
VSG (mm)	20,39 \pm 23,52	0-25
C3 (mg/dl)	107,81 \pm 27,76	90-180
C4 (mg/dl)	19,06 \pm 9,34	10-40
ANA (% positivo)	95,70	
Anti-DNA (% positivo)	31,90	
Anti-ENA (% positivo)	42,60	
Anticoagulante lúpico (% positivo)	10,60	
Anticuerpos anticardiolipina (% positivo)	12,80	
Anticuerpos anti β 2glicoproteína (% positivo)	8,50	
SLEDAI ≤ 4 (%)	76,59	
SLICC/ACR = 0 (%)	21,30	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar o como porcentaje.

En cuanto a la **actividad serológica** del LES, treinta y tres pacientes de las cuarenta y siete pacientes (70,21%) presentaban actividad serológica. Diecinueve presentaban actividad serológica determinada por anticuerpos anti-DNA y/o complemento (40,43%), de manera que, siete pacientes (14,89%) presentaban anticuerpos anti-DNA positivos y cifras de complemento bajas, ocho pacientes (17,02%) presentaron sólo anticuerpos anti-DNA

positivos y cuatro pacientes presentaban sólo cifras de complemento bajo (8,51%). Diez pacientes (21,30%) presentaban anticuerpos antifosfolípidos positivos (anticuerpos anticardiolipina y/o anticuerpos anti β 2glicoproteína) y cuatro pacientes (10,60%) tenían anticoagulante lúpico positivo, aunque sólo 6 de estas pacientes tenían síndrome antifosfolípido.

Teniendo en cuenta el **tratamiento recibido para el LES** en los últimos tres meses: cuatro pacientes estaban sin tratamiento por estar en remisión, dieciséis pacientes habían recibido únicamente antimaláricos, catorce pacientes habían recibido antimaláricos, corticoides e inmunosupresores (azatioprina en cinco pacientes, micofenolato de mofetilo en cuatro pacientes y metotrexato en cinco pacientes), diez pacientes antimaláricos y corticoides, sólo un paciente recibió tratamiento con antimalárico junto a micofenolato de mofetilo y dos pacientes estaban en tratamiento con corticoides e inmunosupresores (micofenolato de mofetilo) (Tabla 6).

Tabla 6. Tratamiento del LES

Tratamiento actual (n=número de pacientes), (%)	
Sin tratamiento (n=4)	8,50
Antimaláricos únicamente (n=16)	34,00
Antimaláricos + Corticoides+ Inmunosupresores (n=14)	29,70
Antimaláricos + Corticoides (n=10)	21,30
Antimalárico + Inmunosupresor (n=1)	2,10
Corticoides + Inmunosupresores (n=2)	4,30

Valores mostrados como porcentajes.

2. DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D EN EL SUERO

Se determinó la concentración de 25 hidroxivitamina D en las cuarenta y siete pacientes. La media de los niveles de 25 hidroxivitamina D era de $45,95 \pm 20,79$ nmol/l. Dieciocho pacientes tenían niveles suficientes de vitamina D (≥ 50 nmol/l) con una media de $68,57 \pm 10,99$ nmol/l y veintinueve pacientes insuficientes (< 50 nmol/l) con una media de $31,91 \pm 10,21$ nmol/l.

No se encontró asociación entre la edad de las pacientes y la concentración de 25 hidroxivitamina D. La media de edad en las pacientes con niveles suficientes de 25 hidroxivitamina D era de $51,41 \pm 11,31$ años y la media en las pacientes insuficientes era de $45,41 \pm 12,57$ años con $p=0,11$.

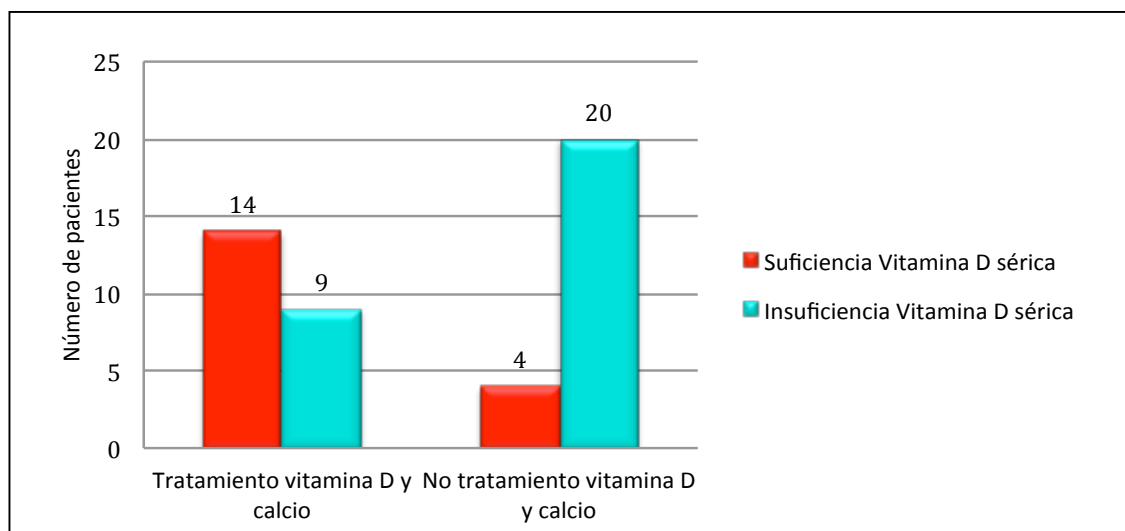
Se investigó si el tratamiento con calcio y vitamina D influía en los niveles séricos de la 25 hidroxivitamina D. La dosis que tomaban las pacientes de colecalciferol estaba entre 400 y 800 UI al día y la de carbonato cálcico entre 500 y 1000 mg al día. La concentración de Vitamina D de las pacientes que tomaban calcio y vitamina D ($n=23$) era significativamente superior ($p= 0,004$) a la de los pacientes que no tomaban calcio y vitamina D ($n=24$). Del primer grupo, catorce pacientes presentaban niveles suficientes y nueve pacientes presentaban niveles insuficientes. En el segundo grupo, tan sólo había cuatro pacientes con niveles suficientes y en veinte los niveles eran insuficientes (tabla 7) (figura 5).

Tabla 7. Tratamiento con calcio y vitamina D y niveles séricos de 25 hidroxivitamina D.

Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)	Media \pm ds	P	Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D		p
			Suficiente (n=18) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	
Vitamina D/Calcio (n=23)	54,54 \pm 21,80	0,004	14/23	9/23	0,003
No Vitamina D/Calcio (n=24)	37,72 \pm 16,31		4/24	20/24	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar o como porcentaje.

Figura 5. Influencia del tratamiento con vitamina D y calcio sobre la concentración de 25 hidroxivitamina D.



Valores mostrados como media \pm desviación estándar.

3. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Cuando se analizó la asociación de la 25 hidroxivitamina D con los factores de riesgo cardiovascular estudiados se observó que las **pacientes hipertensas** presentaban una **concentración de 25 hidroxivitamina D significativamente superior** a la de las pacientes normotensas ($57,39 \pm 23,00$ nmol/l vs $41,10 \pm 18,04$ nmol/l, $p=0,012$). Así mismo, al clasificar a las pacientes según la concentración de la 25 hidroxivitamina D, se vio que de las catorce pacientes hipertensas, diez pacientes presentaban niveles superiores a 50 nmol/l y sólo cuatro pacientes presentaban niveles inferiores al punto de corte establecido. En cambio, de las treinta y tres pacientes normotensas, veinticinco pacientes tenían niveles insuficientes de 25 hidroxivitamina D ($p=0,007$) (tabla 8).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a la asociación de la 25 hidroxivitamina D **con el resto de factores de riesgo cardiovascular:** glucemia alterada en ayunas, diabetes mellitus, dislipemia, tabaquismo, síndrome metabólico, índice de masa corporal, perímetro abdominal, ácido úrico, aclaramiento de la

creatinina, microalbúmina/creatinina, historia familiar de enfermedad cardiovascular y porcentaje de riesgo cardiovascular según el heart score. **Tampoco** se objetivó **correlación** entre la concentración de 25 hidroxivitamina D y ninguno de los factores de riesgo cardiovascular incluidos en el estudio.

Tabla 8. Asociación entre los niveles de la 25 hidroxivitamina D según los factores de riesgo cardiovascular clásicos y la clasificación de los pacientes según la concentración de 25 hidroxivitamina D

Factores de riesgo cardiovascular	Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)		Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D		
	Media \pm ds	p	Suficiente (n=18) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	p
HTA (n=14)	57,39 \pm 23,00	0,012	10/14	4/14	0,007
No HTA (n=33)	41,10 \pm 18,04		8/33	25/33	
Glucemia alterada en ayunas (n=10)	38,35 \pm 22,12	0,19	3/10	7/10	0,72
No Glucemia alterada en ayunas (n=37)	48,64 \pm 20,24		15/37	22/37	
DM (n=2)	30,40 \pm 19,09	0,28	0/2	2/2	0,52
No DM (n=45)	46,64 \pm 20,79		18/45	27/45	
Dislipemia (n=19)	49,41 \pm 21,25	0,35	7/19	12/19	0,99
No Dislipemia (n=28)	43,61 \pm 20,53		11/28	17/28	
Tabaquismo (n=10)	41,29 \pm 20,45	0,43	4/10	6/10	0,99
No Tabaquismo (n=37)	47,21 \pm 20,98		14/37	23/37	
Síndrome Metabólico (n=12)	46,86 \pm 24,99	0,86	5/12	7/12	0,99
No Síndrome Metabólico (n=35)	45,64 \pm 19,56		13/35	22/35	
IMC \geq 30 (n=27)	48,48 \pm 22,25	0,34	11/27	16/27	0,92
IMC <30 (n=20)	42,54 \pm 18,67		7/20	13/20	
Perímetro Abdominal \geq 88cm (n=7)	43,03 \pm 20,68	0,69	2/7	5/7	0,69
Perímetro Abdominal <88cm (n=40)	46,47 \pm 21,04		16/40	24/40	
Ácido úrico >6 mg/dl (n=10)	53,91 \pm 22,68	0,18	5/10	5/10	0,47
Ácido úrico 2,5-6 mg/dl (n=37)	43,80 \pm 20,05		13/37	24/37	
Aclaramiento Creatinina					
\geq 60 (n=10)	50,03 \pm 18,47	0,49	5/10	5/10	0,47
<60 (n=37)	44,85 \pm 21,48		13/37	24/37	
Microalbúmina/creatinina					
>299 mg/g (n=5)	38,50 \pm 17,58	0,49	1/5	4/5	0,64
30-299 mg/g (n=28)	45,94 \pm 22,22		10/28	18/28	
Hª familiar ECV (n=13)	49,18 \pm 24,63	0,52	6/13	7/13	0,52
No Hª familiar ECV (n=34)	44,71 \pm 19,41		12/34	22/34	
Heart score 1% (n=36)	44,99 \pm 19,82	0,57	14/36	22/36	0,99
Heart score 2% (n=11)	49,09 \pm 24,48		4/11	7/11	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. DM: Diabetes mellitus. IMC: Índice de Masa Corporal. Hª familiar ECV: Historia familiar de enfermedad cardiovascular.

Respecto al **número de factores de riesgo cardiovascular**, no se encontraron **diferencias significativas en relación a la concentración de 25 hidroxivitamina D**. Las pacientes con uno o dos factores de riesgo presentaban niveles de 25 hidroxivitamina D discretamente más elevados que aquellas pacientes que no presentaban ningún factor de riesgo cardiovascular. Tampoco se encontró diferencia al clasificar a las pacientes según presentaran niveles séricos de 25 hidroxivitamina D suficientes o insuficientes y el número de factores de riesgo (tabla 9).

Tabla 9. Relación de la 25 hidroxivitamina D con el número de factores de riesgo cardiovascular y la clasificación de los pacientes según la concentración de vitamina D

Número de FRCV	Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)		Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D		p
	Media \pm ds	p	Suficiente (n=18) >20ng/ml >50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	
a) No FRCV (n=10)	44,54 \pm 21,60	a) vs b)= 0,76* a) vs c)= 0,94**	3/10	7/10	a) vs b)= 0,80 a) vs c)= 0,99
b) 1-2 FRCV (n=24)	46,88 \pm 19,10	b) vs c)= 0,83***	10/24	14/24	b) vs c)= 0,99
c) \geq 3 FRCV (n=13)	45,32 \pm 24,60		5/13	8/13	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. FRCV: Factor de riesgo cardiovascular. *p [a) vs b)]: no existen diferencias significativas en la concentración de 25 hidroxivitamina D al comparar a pacientes sin FRCV con pacientes con 1-2 FRCV. ** p [a) vs c)]: no existen diferencias significativas en la concentración de 25 hidroxivitamina D al comparar a pacientes sin FRCV con pacientes con \geq 3 FRCV. *** p [b) vs c)]: no existen diferencias significativas en la concentración de 25 hidroxivitamina D al comparar a pacientes con 1-2 FRCV con pacientes con \geq 3 FRCV.

En cuanto al **tratamiento de los factores de riesgo cardiovascular**, las quince pacientes en tratamiento con estatinas presentaron una concentración de 25 hidroxivitamina D de 51,93 \pm 22,99 nmol/l frente a las treinta y dos pacientes que no tomaban estatinas con una media de 43,15 \pm 19,44 nmol/l, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Al clasificar a las pacientes según la concentración de 25 hidroxivitamina D, observamos que de las pacientes en tratamiento con estatinas la mayoría (nueve de quince), presentaron niveles suficientes de 25 hidroxivitamina D, mientras que un

elevado porcentaje (71,87%) de la pacientes que no tomaban estatinas (veintitrés de treinta y dos) presentaban niveles insuficientes de 25 hidroxivitamina D, siendo cercano a la significación estadística (tabla 10).

En relación al tratamiento antihipertensivo, se observó una tendencia aunque no significativa ($p=0,31$) de las pacientes tratadas con IECA o ARA II, a presentar niveles superiores de 25 hidroxivitamina D con una media de $51,60 \pm 21,39$ nmol/l frente a las pacientes que no recibían tratamiento, cuyos niveles eran más bajos, con una media de $44,23 \pm 20,61$ nmol/l. De las once pacientes tratadas con IECAs o ARA II, siete pacientes presentaron niveles superiores a 50 nmol/l con una $p=0,08$.

No se encontraron diferencias significativas en los niveles de 25 hidroxivitamina D según el estado de antiagregación de las pacientes.

Tabla 10. 25 hidroxivitamina D y tratamiento de los factores de riesgo cardiovascular y la clasificación de los pacientes según la concentración de vitamina D.

Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)			Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D		
Tratamiento de RCV	Media \pm ds	p	Suficiente (n=18) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	p
Estatinas (n=15)	51,93 \pm 22,99	0,18	9/15	6/15	0,08
No estatinas (n=32)	43,15 \pm 19,44		9/32	23/32	
IECA/ARA (n=11)	51,60 \pm 21,39	0,31	7/11	4/11	0,08
No IECA/ARA (n=36)	44,23 \pm 20,61		11/36	25/36	
ASS (n=19)	45,99 \pm 22,40	0,99	7/19	12/19	0,99
No ASS (n=28)	45,93 \pm 20,06		11/28	17/28	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. IECA: Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina. ASS: Acido Acetil Salicílico.

4. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D Y LOS MARCADORES DE INFLAMACIÓN

No existe asociación significativa en cuanto a la normalidad o valores alterados de los marcadores de inflamación determinados y la concentración de la 25 hidroxivitamina D, así como tampoco se objetivó significación estadística, al clasificar a las pacientes según sus niveles de 25 hidroxivitamina D en suficientes o insuficientes (tabla 11).

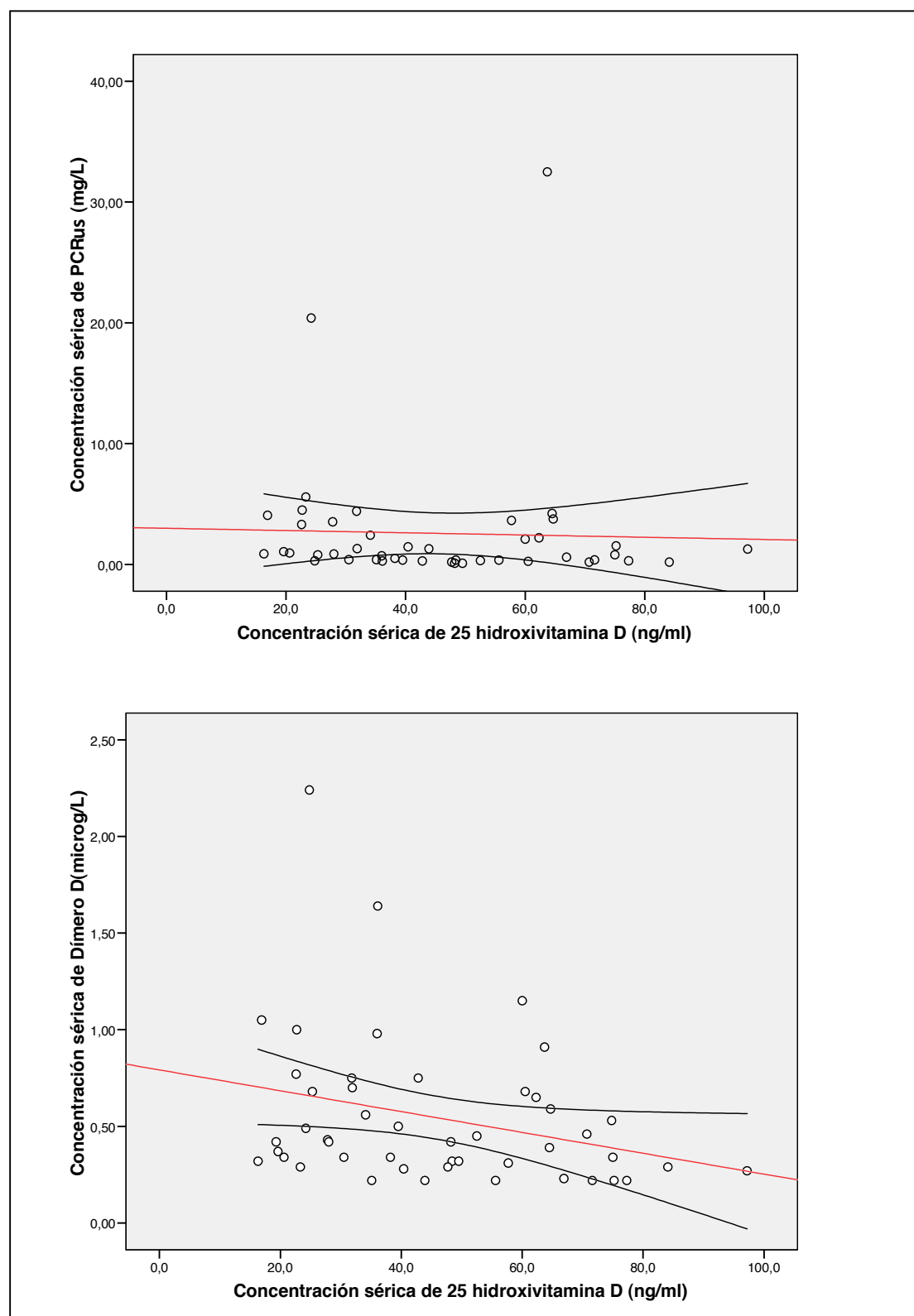
Tabla 11. Asociación de los marcadores de inflamación con el nivel de 25 hidroxivitamina D y la clasificación de los pacientes según la concentración de 25 hidroxivitamina D

Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)	Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D				
	Media \pm ds	p	Suficiente (n=18) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	p
Homocisteína >12,5 μ mol/l (n=14)	44,29 \pm 19,64	0,93	5/14	9/14	0,99
4,6-12,5 μ mol/l (n=31)	44,84 \pm 20,12		11/31	20/31	
PCR-us >1 mg/l (n=20)	44,23 \pm 22,42	0,63	8/20	12/20	0,99
PCR-us 0-1 mg/l (n=25)	47,25 \pm 19,05		9/25	16/25	
Dímero-D >0,5 μ g/l (n=17)	41,82 \pm 18,43	0,31	6/17	11/17	0,99
0,1-0,5 μ g/l (n=30)	48,29 \pm 21,98		12/30	18/30	
Fibrinógeno >450 mg/dl (n=9)	36,95 \pm 19,52	0,15	2/9	7/9	0,45
150-450 mg/dl (n=38)	48,09 \pm 20,76		16/38	22/38	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. PCR-us: Proteína C Reactiva Ultrasensible.

En nuestro estudio se objetiva una **correlación inversa** entre la concentración de 25 hidroxivitamina D y el valor de PCR-us ($r=-0.286$; $p=0.057$) y dímero D ($r=-0.342$; $p=0.019$) de manera que en el momento de la extracción, las pacientes con niveles más bajos de 25 hidroxivitamina D, presentaban mayores niveles de PCR-us y Dímero D.

Figura 6. Correlación entre la concentración de la 25 hidroxivitamina D y el valor de la PCR-us y el dímero D.



5. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES RELACIONADOS CON EL LES

Se analizó la asociación de la concentración sérica de 25 hidroxivitamina D con los factores relacionados con el LES. En cuanto a la presencia de daño orgánico, medido por el SLICC/ACR, encontramos que los pacientes con daño orgánico presentaban una tendencia cercana a la significación estadística a tener una concentración en el suero de 25 hidroxivitamina D más elevada ($48,75 \pm 21,45$ nmol/l) que las pacientes que no tenían daño orgánico ($35,59 \pm 14,78$ nmol/l). Del mismo modo, observamos que de las dieciocho pacientes con niveles suficientes de 25 hidroxivitamina D, dieciséis pacientes (88,9%) presentaban daño orgánico (tabla 12).

Tabla 12. Asociación entre el nivel de 25 hidroxivitamina D y factores relacionados con el LES y la clasificación de los pacientes según la concentración de 25 hidroxivitamina D.

	Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)		Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D		
	Media \pm ds	p	Suficiente (n=18) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	p
SLEDAI>4 (n=9)	48,71 \pm 18,96	0,61	4/9	5/9	0,71
SLEDAI \leq 4 (n=36)	44,71 \pm 21,52		13/36	23/36	
SLICC/ACR \geq 1 (n=37)	48,75 \pm 21,45	0,08	16/37	21/37	0,28
SLICC/ACR=0 (n=10)	35,59 \pm 14,78		2/10	8/10	
Afectación Visceral (n=6)	51,10 \pm 20,24	0,76	4/6	2/6	0,99
Sin Afectación Visceral (n=5)	47,02 \pm 23,33		3/5	2/5	
Afectación Renal (n=14)	48,32 \pm 17,60	0,74	6/14	8/14	0,99
Sin Afectación Renal (n=31)	46,07 \pm 22,42		12/31	19/31	
Afectación Cutánea (n=4)	53,13 \pm 21,84	0,66	3/4	1/4	0,99
Sin Afectación Cutánea (n=7)	47,03 \pm 21,38		4/7	3/7	
Afectación Mixta (n=36)	44,95 \pm 21,03	0,55	11/36	25/36	0,08
Sin Afectación Mixta (n=11)	49,25 \pm 20,66		7/11	4/11	
Fotosensibilidad (n=16)	48,15 \pm 24,04	0,75	8/16	8/16	0,48
Sin Fotosensibilidad (n=29)	46,01 \pm 19,31		10/29	19/29	
Hipocomplementemia (n=11)	36,02 \pm 17,94	0,08	2/11	9/11	0,17
Complemento normal (n=35)	48,89 \pm 21,18		15/35	20/35	
Ac. anti-ADN (n=15)	46,21 \pm 22,67	0,96	7/15	8/15	0,24
No Ac. Anti-ADN (n=32)	45,83 \pm 20,24		11/32	21/32	
Anticoagulante lúpico \pm Ab* (n=10)	48,35 \pm 21,20	0,74	5/10	5/10	0,48
No anticoagulante lúpico \pm Ab* (n=36)	45,86 \pm 20,96		13/36	23/36	
Síndrome Antifosfolípido (n=6)	53,68 \pm 22,83	0,33	4/6	2/6	0,19
No Síndrome Antifosfolípido (n=41)	44,82 \pm 20,54		14/41	27/41	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. Ab*: Anticuerpos anticardiolipina + anti B2 glicoproteína.

No se observó ninguna asociación de la concentración de 25 hidroxivitamina D con el resto de los factores relacionados con el LES incluidos en el estudio. Al clasificar los niveles séricos de la 25 hidroxivitamina D en suficientes e insuficientes, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas con la actividad de la enfermedad medida por el SLEDAI, ni con el tipo de afectación lúpica, anticuerpos anti-DNA, anticoagulante lúpico ni anticuerpos antifosfolípidos y/o síndrome antifosfolipídico.

En nuestro trabajo, **la concentración de la 25 hidroxivitamina D, no se relacionó con el tratamiento recibido por su LES**. Las pacientes en tratamiento con antimaláricos e inmunosupresores presentaban niveles inferiores de 25 hidroxivitamina D ($44,90 \pm 20,74$ nmol/l) frente a las pacientes que sólo tomaban antimaláricos ($49,13 \pm 21,81$ nmol/l), aunque no de manera significativa (tabla 13).

Tabla 13. Relación entre la concentración de 25 hidroxivitamina D y el tratamiento recibido para el LES y la clasificación de los pacientes según la concentración de vitamina D

Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)			Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D		
Tratamiento del LES	Media \pm ds	p	Suficiente (n=18) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	p
a) Sin Tratamiento (n=4)	40,40 \pm 20,53	a) vs b)= 0,48* a) vs c)= 0,69**	1/4	3/4	a) vs b)= 0,74* a) vs c)=0,99**
b) Antimaláricos (n=16)	49,13 \pm 21,81	b) vs c)= 0,53***	8/16	8/16	b) vs c)=0,34***
c) Antimaláricos + Inmunosupresores (n=27)	44,90 \pm 20,74		9/27	18/27	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. *p[a] vs b]: no existen diferencias significativas en la concentración de 25 hidroxivitamina D al comparar a pacientes sin tratamiento con pacientes en tratamiento con antimaláricos. ** p[a] vs c]: no existen diferencias significativas en la concentración de 25 hidroxivitamina D al comparar a pacientes sin tratamiento con pacientes en tratamiento con antimaláricos e inmunosupresores. *** p[b] vs c]: no existen diferencias significativas en la concentración de 25 hidroxivitamina D al comparar a pacientes en tratamiento con antimaláricos con pacientes en tratamiento con antimaláricos e inmunosupresores.

6. ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL DE 25 HIDROXIVITAMINA D Y ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA

6.1 MEDIDA DE LA RIGIDEZ ARTERIAL POR VELOCIDAD ONDA DE PULSO (VOP) Y MEDIDA DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (GIM)

Se ha descrito en la literatura que la medida de VOP está influenciada significativamente por la edad y la tensión arterial. En el presente estudio, se dividió a las pacientes en dos grupos según su resultado de VOP, ajustado a edad y TA, basándonos en los estándares de normalidad publicados por la Sociedad Europea de Cardiología¹⁵³. Diecisiete pacientes tenían una VOP patológica frente a veintiocho con una VOP normal. En cuanto al GIM, los resultados publicados en la literatura no son concluyentes a la hora de establecer el punto de corte entre GIM normal o patológica. En nuestro estudio, se estableció como punto de corte para el GIM la mediana de nuestra muestra, obteniéndose dos grupos según $\text{GIM} < 0,53 \text{ mm}$ o $\text{GIM} \geq 0,53 \text{ mm}$. Veintidós pacientes tenían un $\text{GIM} < 0,53 \text{ mm}$ y veintitrés pacientes tenían un $\text{GIM} \geq 0,53 \text{ mm}$. Hubo dos pacientes a las que no se les realizó determinación de VOP y GIM. La relación de la VOP y el GIM con la concentración de 25 hidroxivitamina D está resumida en la tabla 14.

No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de la 25 hidroxivitamina D y los pacientes con VOP patológica o normal y GIM patológica o normal. Tampoco hubo diferencias significativas al clasificar las pacientes en niveles suficientes e insuficientes de 25 hidroxivitamina D. No obstante, las pacientes que tuvieron valores normales de VOP o de GIM presentaron con mayor frecuencia niveles insuficientes de 25 hidroxivitamina D.

Tabla 14. Asociación de 25 hidroxivitamina D con la rigidez arterial y la clasificación de los pacientes según la concentración de 25 hidroxivitamina D.

	Concentración de 25 hidroxivitamina D (nmol/l)		Pacientes clasificados según la concentración de 25 hidroxivitamina D		
	Media \pm ds	p	Suficiente (n=17) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=28) <20ng/ml (<50nmol/l)	p
VOP Patológica (n=17)	49,25 \pm 20,87	0,50	9/17	8/17	0,22
VOP Normal (n=28)	44,94 \pm 20,17		8/28	20/28	
GIM Patológico (n=23)	50,87 \pm 19,87	0,22	12/23	11/23	0,16
GIM Normal (n=22)	43,29 \pm 20,72		6/22	16/22	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. VOP: Velocidad de Onda Pulso. GIM: Grosor íntima-Media. La determinación de VOP y GIM se realizó en 45 pacientes.

Además, encontramos **correlación directa** entre la concentración de la 25 hidroxivitamina D y la rigidez arterial determinada por la velocidad onda pulso y el grosor íntima media. De esta manera, podemos afirmar que a mayor concentración de la 25 hidroxivitamina D, encontramos en nuestras pacientes mayor rigidez arterial con mayor velocidad de onda pulso ($p=0,02$ y $r=0,35$) y mayor grosor íntima media ($p=0,01$ y $r=0,36$).

Estos resultados aparentemente paradójicos, nos hicieron investigar si la mayor rigidez arterial estaba relacionada con la suplementación de vitamina D y calcio que estaban recibiendo algunas pacientes, puesto que habíamos observado que la concentración de 25 hidroxivitamina D de las pacientes que tomaban vitamina D y calcio era significativamente superior ($p=0,004$) a la de las pacientes que no tomaban suplementos (tabla 7). En la tabla 15 se observa que aunque las diferencias no son estadísticamente significativas, de las 17 pacientes con VOP patológica el 64,7% (11 pacientes) estaban tomando suplemento de vitamina D y calcio. Además, se objetivó una correlación cercana a la significación estadística entre la rigidez arterial y la concentración de 25 hidroxivitamina D en las pacientes que estaban tomando el suplemento de vitamina D y calcio ($r=0,36$; $p=0,09$).

Tabla 15. Rigidez arterial determinada por VOP y tratamiento con suplementos de vitamina D y calcio

Suplemento con Vitamina D y Calcio	VOP Normal (n=28)	VOP Patológica (n=17)	P
No suplemento (n=22)	16/22	6/22	0,23
Si suplemento (n=23)	12/23	11/23	
	GIM Normal (n=22)	GIM Patológica (n=23)	P
No suplemento (n=22)	11/22	11/22	0,99
Si suplemento (n=23)	11/23	12/23	

VOP: Velocidad de Onda Pulso. GIM: Grosor íntima-Media. La determinación de VOP y GIM se realizó en 45 pacientes.

Teniendo en cuenta la suplementación con vitamina D y calcio, no encontramos diferencias en la concentración de la 25 hidroxivitamina D al clasificar a las pacientes según VOP y GIM normal o patológicas (tabla 16). Sin embargo, observamos una tendencia a que las pacientes suplementadas con un grosor íntima media patológico, presentaron niveles de 25 hidroxivitamina D más elevados, mientras que en el grupo de las no suplementadas los niveles de 25 hidroxivitamina D eran muy similares.

Tabla 16. Concentración de 25 hidroxivitamina D en relación con la arteriosclerosis subclínica y la suplementación de calcio a los pacientes.

Suplemento con Vitamina D y Calcio	VOP Normal (n=28)	VOP Patológica (n=17)	P
No suplemento (n=22)	n=16 37,25 ± 12,05	n=6 39,58 ± 20,90	0,75
Si suplemento (n=23)	n=12 54,56 ± 24,39	n=11 54,53 ± 19,79	0,99
	GIM Normal (n=22)	GIM Patológica (n=23)	P
No suplemento (n=22)	n=11 38,57 ± 14,84	n=11 40,32 ± 17,61	0,80
Si suplemento (n=23)	n=11 48,01 ± 25,14	n=12 60,53 ± 17,16	0,17

Valores mostrados como media ± desviación estándar. VOP: Velocidad de Onda Pulso. GIM: Grosor íntima-Media. La determinación de VOP y GIM se realizó en 45 pacientes.

A la vista de los resultados, puesto que las pacientes están suplementadas, no solo con vitamina D sino también con calcio, nos planteamos si la mayor rigidez arterial estaba relacionada con los niveles séricos de calcio en las pacientes. Cuando analizamos los niveles de calcio sérico de las pacientes en relación con la rigidez arterial y el GIM, observamos que las pacientes con VOP patológica presentaron una tendencia cercana a la significación estadística a tener una mayor concentración de calcio sérico, frente a las que tenían VOP normal. Lo mismo ocurría cuando analizamos los valores séricos de calcio y el GIM (tabla 17).

Tabla 17. Concentración de calcio sérico en relación con la arteriosclerosis subclínica.

Concentración de Calcio sérico (mg/dl)		
	Media \pm ds	p
VOP Patológica (n=17)	9,53 \pm 0,43	0,057
VOP Normal (n=28)	9,23 \pm 0,53	
GIM Patológico (n=23)	9,45 \pm 0,48	0,11
GIM Normal (n=22)	9,21 \pm 0,52	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar. VOP: Velocidad de Onda Pulso. GIM: Grosor íntima-Media. La determinación de VOP y GIM se realizó en 45 pacientes.

Así mismo, observamos una correlación directa entre el grosor íntima-media y la concentración de calcio sérico $r=0,36$ y $p= 0,01$ y una tendencia con la rigidez arterial y la concentración de calcio sérico $r=0,26$ y $p= 0,08$.

Cuando analizamos la influencia de la toma de suplementos de vitamina D y calcio en la concentración del calcio sérico en las pacientes, no encontramos diferencias significativas entre tomar y no tomar calcio (tabla 18).

Tabla 18. Concentración de calcio sérico y tratamiento con suplementos de vitamina D y calcio

Concentración de Calcio (mg/dl)		
	Media \pm ds	p
SI suplemento (n=23)	9,35 \pm 0,50	0,73
No suplemento (n=24)	9,30 \pm 0,52	

Valores mostrados como media \pm desviación estándar

Pero, cuando analizamos sólo el grupo de pacientes que tomaban suplementos, los pacientes con mayor rigidez arterial presentaron niveles mas elevados de calcio sérico en el límite de la significación estadística. Así mismo, las pacientes con GIM patológico, presentaron una concentración de calcio sérico significativamente más alta ($p=0,041$) que las pacientes con GIM normal (tabla 19).

Tabla 19. Relación de la concentración de calcio sérico con la arteriosclerosis subclínica y la suplementación de calcio.

Concentración de Calcio sérico (mg/dl)			
Suplemento con Vitamina D y Calcio	VOP Normal (n=28)	VOP Patológica (n=17)	p
No suplemento (n=22)	n=16 9,26 ± 0,53	n=6 9,48 ± 0,53	0,39
Si suplemento (n=23)	n=12 9,16 ± 0,53	n=11 9,55 ± 0,40	0,057
	GIM Normal (n=22)	GIM Patológico (n=23)	p
No suplemento (n=22)	n=11 9,26 ± 0,51	n=11 9,35 ± 0,55	0,67
Si suplemento (n=23)	n=11 9,13 ± 0,53	n=12 9,55 ± 0,39	0,041

Valores mostrados como media ± desviación estándar. VOP: Velocidad de Onda Pulso. GIM: Grosor íntima-Media. La determinación de VOP y GIM se realizó en 45 pacientes.

6.2 CUANTIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES EN SANGRE PERIFÉRICA

No existe asociación entre la clasificación de las pacientes en niveles de 25 hidroxivitamina D suficientes e insuficientes y el porcentaje de las células progenitoras endoteliales y células endoteliales apoptóticas aunque observamos que **las pacientes con niveles suficientes de 25 hidroxivitamina D presentaban un mayor porcentaje de células progenitoras endoteliales** (tabla 20).

Tabla 20. Células progenitoras endoteliales y la clasificación de los pacientes según la concentración de 25 hidroxivitamina D.

Subpoblación celular	Suficiente (n=18) >20ng/ml (>50-190nmol/l)	Insuficiente (n=29) <20ng/ml (<50nmol/l)	p
Células Endoteliales apoptóticas (CD146+AnexinaV+)	0,02±0,04	0,06±0,10	NS
Células Progenitoras Endoteliales Inmaduras (CD34+CD133+KDR+)	0,68±0,70	0,43±0,21	NS
Células Progenitoras Endoteliales Maduras (CD34+KDR+)	1,19±0,98	0,79±0,39	NS

Valores mostrados como media ± desviación estándar.

Tampoco se encontró **correlación** entre la concentración 25 hidroxivitamina D y la cuantificación de las células progenitoras endoteliales y células endoteliales apoptóticas.

DISCUSIÓN

A comienzos de los años 80, empezaron a describirse las primeras hipótesis acerca de cómo la vitamina D podría ser un factor ambiental que explicase las diferencias en los índices de mortalidad por enfermedad cardiovascular de tipo isquémico. Fue entonces cuando se observó por Fleck *et al*⁶² que los índices de mortalidad por cardiopatía isquémica aumentaban, conforme se alejaba la población estudiada del Ecuador y también por Grimes *et al*⁶³ en el Reino Unido, que describió que la mortalidad por cardiopatía isquémica era inversamente proporcional a la cantidad de horas de luz solar.

Se ha descrito que la deficiencia de vitamina D podría tener un papel en el desarrollo de arteriosclerosis subclínica en la población general, aunque éste mecanismo no se conoce bien en la actualidad^{122,144}.

Desde entonces, son muchos los factores de riesgo cardiovascular que han sido asociados a la deficiencia de vitamina D tales como: hipertensión arterial, diabetes mellitus, IMC elevado (>30), niveles elevados de triglicéridos y microalbuminuria⁶⁶. A partir de ahí, se han propuesto varios mecanismos patogénicos del papel protector de la vitamina D en la enfermedad cardiovascular.

Por lo tanto, parece lógico investigar lo descrito en la literatura respecto a la suplementación con vitamina D y calcio en caso de hipovitaminosis. Hay estudios que afirman que la suplementación con vitamina D, reduce el riesgo de presentar IAM, enfermedad coronaria, insuficiencia cardíaca, ictus, fracaso renal y muerte¹²³. Paradójicamente, otros estudios describen un papel perjudicial del suplemento de vitamina D y calcio en el infarto de miocardio sugiriendo que el tratamiento para la salud ósea pudiese contribuir al depósito de calcio en el árbol vascular^{125,126,127,128}.

En el LES, la evidencia clínica sugiere que los pacientes tienen más factores de riesgo cardiovascular que la población general y en consecuencia, más enfermedad coronaria, aunque se ha demostrado que estos factores de riesgo por sí solos, no explican el gran incremento de incidencia de eventos vasculares¹⁰. Dada la elevada incidencia de enfermedad coronaria y relevancia pronóstica de la misma, parece justificada la identificación precoz de arteriosclerosis subclínica a distintos niveles, preferiblemente con técnicas no invasivas y de fácil aplicación en la práctica diaria.

Varios mecanismos se han relacionado con el desarrollo de arteriosclerosis subclínica, tales como la actividad de la enfermedad³⁹, el tratamiento recibido^{43,44}, factores solubles y progenitores endoteliales^{50,49} y los niveles séricos de vitamina D¹²².

Dicho esto, lo descrito sobre la relación de la concentración sérica de vitamina D con riesgo cardiovascular en la población general, parece lógico aplicarlo a pacientes con LES, al tratarse de un grupo poblacional en el que la protección solar es parte del tratamiento, por lo que se trata de pacientes con deficiencia de vitamina D y con riesgo cardiovascular dado por su propia enfermedad, aunque hasta el momento, escasos trabajos han sido publicados al respecto^{59,87,88,108}.

La asociación de los niveles séricos de vitamina D con los factores relacionados con el lupus, es controvertida. Algunos autores han relacionado la deficiencia de la vitamina D con la actividad de la enfermedad^{92,59,90,58,88,93}, mientras que otros no encuentran relación^{57,94,95,96}.

El presente trabajo fue diseñado para valorar los niveles séricos de vitamina D en el LES y su relación con factores de riesgo cardiovascular, factores relacionados con la enfermedad y arteriosclerosis subclínica, así como el papel de los diferentes tratamientos.

1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN INCLUIDA EN EL ESTUDIO

Los resultados obtenidos nos muestran que las pacientes del estudio tenían una edad media (48 años) y tiempo de evolución de enfermedad (10 años) similar a la de otros trabajos en pacientes con LES^{59,88}.

Respecto a los factores de riesgo cardiovascular, nuestras pacientes eran menos hipertensas (30%)^{87,59,88}, tenían más hipercolesterolemia (40%)^{59,88} y había más fumadoras (22%) que en otros estudios^{88,59,87}.

Sin embargo, el porcentaje de diabetes en nuestra serie de pacientes era muy bajo (4%), similar a otras series^{59,88,87}. Tampoco existe en nuestra muestra un alto porcentaje de enfermedad renal (30%), factor de riesgo fundamental en la génesis de la enfermedad arteriosclerótica, al igual que sucede en otros trabajos^{59,88}. En nuestra serie un 27,71% presentaba historia familiar de enfermedad cardiovascular previa, sin que este factor haya sido considerado en otras publicaciones en pacientes lúpicos.

En cuanto al LES, la mayoría de nuestras pacientes se encontraban en fase inactiva de su enfermedad, sólo el 18% de nuestras pacientes presentaron un SLEDAI ≥ 4 y en concreto, sólo una paciente (2%) presentó un SLEDAI >12 , lo que contrasta con otras series como la de Mok *et al*⁸⁸ con un 13% de pacientes con SLEDAI >12 . Ningún paciente sobrepasaba un SLICC/ACR de 6 e incluso el 21% tenía un SLICC/ACR igual a 0, similar a las pacientes de Wu *et al*⁵⁹. En cuanto al tratamiento de las pacientes, encontramos semejanza con otras series^{59,87}. Los distintos regímenes se basaban, como era esperable, en la combinación de antimaláricos (34%), corticoides y en un menor número de casos, inmunosupresores añadidos a los antimaláricos (57%). También había pacientes que no estaban recibiendo ningún tratamiento de los descritos (8%).

2. CONCENTRACIÓN SÉRICA DE 25 HIDROXIVITAMINA D

Actualmente no existe un consenso en relación a la definición de los niveles óptimos de 25 hidroxivitamina D determinados en el suero. La gran mayoría de expertos coinciden en establecer que la deficiencia equivale a niveles de 25 hidroxivitamina D séricos inferiores a 50 nmol/l (20 ng/ml)⁵¹. Según las recomendaciones actuales consideramos niveles suficientes de vitamina D un nivel en suero superior o igual a 50 nmol/l (20 ng/ml) y niveles insuficientes a niveles inferiores a 50 nmol/l (20 ng/ml). Pero, hay autores que consideran niveles normales de vitamina D un nivel en suero de 76-190 nmol/l (30-76 ng/ml), pudiendo hablar de insuficiencia de vitamina D entre 25-75 nmol/l (10-30 ng/ml) y de deficiencia de vitamina D por debajo de 25 nmol/l (10 ng/ml)⁵³.

La comparación entre los estudios existentes al respecto no es fácil, por la diferencia de las poblaciones estudiadas, la localización de los mismos, así como los métodos de laboratorio usados para medir la vitamina D y el uso de algunos autores de puntos de corte distintos al nuestro, a la hora de establecer la suficiencia, insuficiencia y deficiencia de la vitamina D.

La concentración de 25 hidroxivitamina D fue determinada en el suero de nuestras cuarenta y siete pacientes con una media de 45,95 nmol/l, de las que el 38% tenían niveles suficientes y el 62% tenían niveles insuficientes, todo ello a pesar del hecho de que nuestra población reside en el sur de Europa con muchos días soleados.

Por lo tanto, podemos afirmar que nuestros datos **coinciden con otras series españolas** como la de Ruiz-Irastorza *et al*⁹⁴ y la de López-Robles *et al*¹⁵⁴ en las que un 47,3%-75% presentan niveles insuficientes (25-75 nmol/l) y 38,2%-15% presentan niveles deficientes (<25 nmol/l). Así mismo también hemos encontrado **concordancia a nivel internacional** con otros grupos de trabajo en el lupus, como los de Huisman *et al*¹⁵⁵ (niveles

medios de 25 hidroxivitamina D de 50 nmol/l), Mok *et al*⁸⁸ (69% insuficientes y 27% deficientes) y Reynolds *et al*⁸⁷ (52% presentaron niveles medios de 25 hidroxivitamina D <50 nmol/l). Algún trabajo con grupo control y mayor número de pacientes, también estableció que las pacientes lúpicas presentaban una concentración sérica menor de 25 hidroxivitamina D (44 nmol/l) que la población general (69 nmol/l)^{156,157}.

Curiosamente, en algunas series de **países nórdicos** con menos días soleados, se evidenció que el 66,7% de los pacientes con LES presentaron niveles subóptimos de vitamina D, un 48,8% niveles insuficientes y un 17,9% niveles deficientes¹⁵⁸. Llama la atención que en estos países, los niveles de la vitamina no fuesen aún más bajos, por la falta de exposición solar. Posiblemente nuestros pacientes, con más días soleados, se protegían mejor del sol, disminuyendo la síntesis de la vitamina D en la piel y por ello, presentaron una concentración sérica igualmente baja de 25 hidroxivitamina D. En la misma línea, varios estudios han mostrado que los niveles de vitamina D en los países mediterráneos no son altos como se esperaba¹⁵⁹. Es posible que otros factores puedan afectar a los niveles de vitamina D.

No se encontró asociación significativa entre la **edad** de las pacientes y la concentración de 25 hidroxivitamina D aunque, la media de edad en las pacientes con niveles séricos suficientes de 25 hidroxivitamina D era de $51,41 \pm 11,31$ años y la media en las pacientes con niveles insuficientes era de $45,41 \pm 12,57$ años, aunque sin alcanzar significado estadístico. Es posible que la tendencia a una mayor concentración de 25 hidroxivitamina D en el suero a edades más tardías, fuese debida a que las pacientes mayores, llevaban más tiempo suplementadas con calcio y vitamina D o a una protección solar disminuida. Estos datos coinciden con los de Irastorza *et al*⁸⁹ que afirman que a mayor edad, mayores niveles de vitamina D en el suero.

Se investigó si el **tratamiento con vitamina D y calcio** influía en los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D. La dosis de colecalciferol que tomaban las pacientes estaba entre 400 y 800 UI al día y la de carbonato cálcico entre 500 y 1000 mg al día. La concentración de 25 hidroxivitamina D de las pacientes que tomaban calcio y vitamina D (n=23) era significativamente superior a la de las pacientes que no tomaban calcio y vitamina D (n=24).

Al comparar nuestros datos con otras series, encontramos que Cutillas-Marco *et al*⁵⁶ evidenciaron una tendencia a que los suplementos con vitamina D aumentaban la concentración sérica de la vitamina D, alcanzando significación estadística en el estudio de Mok *et al*⁸⁸.

En cambio en otro estudio, no encontraron asociación entre la suplementación con vitamina D y niveles séricos de vitamina D más elevados, aunque desconocemos la dosis que se empleó en dicha serie¹⁵⁸. En el trabajo de Irastorza *et al*⁸⁹ todas las pacientes estaban tomando calcio y vitamina D, presentando el 61% niveles suficientes, el 45% niveles insuficientes y el 35% niveles deficientes, por lo que afirmaron que el suplemento con calcio y vitamina D no protege contra la deficiencia de vitamina D y lo relacionaron con la falta de adherencia de las pacientes al tratamiento.

Por último, hay autores que no tienen en cuenta si la toma de vitamina D y calcio en pacientes lúpicos aumenta los niveles de la vitamina D en el suero^{87,108,156}.

3. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Al determinar los factores de riesgo cardiovascular clásicos descritos, evidenciamos que las pacientes con hipertensión arterial y las que tenían hipercolesterolemia en tratamiento con estatinas, presentaban una mayor concentración sérica de 25 hidroxivitamina D. No se encontró asociación con ninguno de los otros factores de riesgo CV estudiados, tales como glucemia alterada en ayunas, diabetes mellitus, tabaquismo, síndrome metabólico, índice de masa corporal, perímetro abdominal, ácido úrico, aclaramiento de la creatinina, cociente microalbúmina/creatinina, historia familiar de enfermedad cardiovascular y porcentaje de riesgo cardiovascular según el heart score.

Objetivamos una **asociación positiva entre la hipertensión arterial y la concentración de 25 hidroxivitamina D**. Las pacientes con hipertensión arterial, presentaron una mayor concentración sérica de 25 hidroxivitamina D, frente a las mujeres normotensas ($57,39 \pm 23,00$ nmol/l vs $41,10 \pm 18,04$ nmol/l, $p=0,012$).

En **población general**, la deficiencia de vitamina D se ha relacionado inversamente con la hipertensión arterial en algunos trabajos^{68,160,161,162,163}. Algunos autores comentan que la suplementación con vitamina D, puede lograr un descenso de la tensión arterial, de entre 2 y 6 mmHg^{164,165}. Sin embargo, el estudio WHI realizado en 36.282 mujeres postmenopáusicas de entre 50 y 79 años, suplementadas con calcio y vitamina D durante 7 años, se evidenció un aumento aunque no significativo, de la tensión arterial sistólica y diastólica, en las mujeres con una concentración más elevada de la vitamina D¹⁶⁶. Por último existen estudios como el de Scragg *et al*⁷⁹, en el que tras exponer a mujeres normotensas a radiación UVA y UVB durante 12 semanas, refirieron un aumento de la concentración sérica de calcidiol, pero no encontraron una disminución de la tensión arterial. Otros estudios de corte transversal y de menor envergadura, tales como los de Hintzpeter *et al*⁶⁹ los de Snijder *et al*⁷⁰ tampoco encontraron relación entre la concentración de la vitamina D y la tensión arterial.

En los trabajos de **pacientes lúpicos**, como los de Reynolds *et al*⁸⁷ y Mok *et al*⁸⁸, tampoco asociaron la hipovitaminosis D con la hipertensión arterial. Sin embargo, Wu *et al*⁵⁹ observaron una tendencia a una mayor tensión arterial diastólica en pacientes con deficiencia de vitamina D, aunque no tuvieron en cuenta el tratamiento antihipertensivo con IECAs.

El mecanismo por el que la vitamina D se ha relacionado con la hipertensión arterial en la población general ha sido sugerido por Li *et al*⁷³, que afirma que la vitamina D actúa como un agente antihipertensivo al inhibir la expresión del gen de la renina por regulación negativa del eje renina-angiotensina-aldosterona, por lo que la deficiencia de vitamina D por tanto, estimularía el eje, provocando hipertensión arterial, una situación que es reversible con IECAs. Sólo encontramos un estudio que relacionó, la toma de IECAs, con una disminución de la concentración sérica de la 1,25 hidroxivitamina D¹⁶⁷.

Pensamos, que nuestros resultados podrían explicarse porque las pacientes con hipertensión arterial, se encontraban en tratamiento con calcio y vitamina D, por lo que la toma de suplemento de vitamina D y calcio era la causa de una concentración sérica de 25 hidroxivitamina D más elevada.

Actualmente, se está desarrollando un estudio en pacientes diabéticos e hipertensos con deficiencia de vitamina D, a los que se les administra 4.000 UI de colecalciferol diarias por 16 semanas con posterior registro de 24 horas de la tensión arterial (NCT00736632), con idea de aclarar la asociación de los niveles séricos de vitamina D con la hipertensión arterial y que puede contribuir a dar respuesta a algunas de las cuestiones planteadas.

Así mismo, objetivamos una **tendencia a presentar niveles más elevados de 25 hidroxivitamina D en las pacientes con hipercolesterolemia en tratamiento con estatinas**,

las cuales presentaron una concentración de 25 hidroxivitamina D superior ($51,93 \pm 22,99$ nmol/l) frente a las pacientes que no tomaban estatinas ($43,15 \pm 19,44$ nmol/l).

En los estudios realizados en **población general**, Martins *et al*¹⁶⁰ y Hypponem *et al*¹⁶⁸, relacionaron significativamente niveles bajos de 25 hidroxivitamina D séricos, con mayor nivel de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos. Karhapaa *et al*¹⁶⁹ describieron que niveles bajos de 1,25 hidroxivitamina D se asociaban a niveles bajos de colesterol HDL.

En la misma línea, trabajos en **pacientes lúpicos**, por Reynolds *et al*⁸⁷ y MoK *et al*⁸⁸, asociaron la deficiencia de 25 hidroxivitamina D, con niveles más elevados de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos, así como con niveles más bajos de colesterol HDL. Wu *et al*⁵⁹, así mismo, observaron asociación inversa significativa de la concentración sérica de 25 hidroxivitamina D con el nivel de colesterol LDL.

Para explicar la diferencia en los resultados de nuestro estudio, investigamos si el tratamiento con estatinas tenía algún papel en la concentración de 25 hidroxivitamina D, dado que la mayoría de nuestras pacientes con hipercolesterolemia estaban en tratamiento con estatinas. Según algunos trabajos realizados en pacientes con síndrome coronario agudo en tratamiento con atorvastatina, por Pérez-Castrillón *et al*¹⁷⁰ y en otro trabajo más reciente realizado en pacientes con síndrome de ovario poliquístico en tratamiento con atorvastatina, por Sathyapalan *et al*¹⁷¹, parece ser que las estatinas incrementan los niveles séricos de vitamina D. En el año 2011 también se publican dos trabajos que sugieren que algunas pero no todas las estatinas, aumentan los niveles de vitamina D^{172,173}. Zitterman *et al*¹⁷⁴ en 2011 realizaron una revisión de los estudios existentes hasta el momento en relación al papel de las estatinas en la concentración de la vitamina D y refieren que el efecto de las estatinas sobre los niveles de 25 hidroxivitamina D séricos, aún no se ha esclarecido. Por otra parte, sería posible que las pacientes con hipercolesterolemia tratadas con estatinas,

tuviesen niveles más bajos de colesterol, al mismo tiempo que niveles más elevados de vitamina D en el suero.

En nuestro trabajo, ***no objetivamos asociación entre la diabetes y la concentración de 25 hidroxivitamina D***, que puede deberse al pequeño tamaño de la muestra. Sólo dos mujeres eran diabéticas, ambas con niveles insuficientes de 25 hidroxivitamina D.

Sin embargo, trabajos observacionales de casos-controles y mayor número de pacientes en la **población general**, encontraron relación entre la deficiencia de vitamina D y la resistencia a insulina o secreción inadecuada de insulina^{77,78}. Así mismo, existe un trabajo con un largo periodo de seguimiento, que demostró que niveles bajos de vitamina D se asociaban a un mayor riesgo de diabetes y menor sensibilidad a insulina⁷⁹ y otro estudio, en el que manteniendo niveles séricos de vitamina D >70 nmol/l (>28ng/ml) tras suplementar, observó una reducción del 40% del riesgo de desarrollar Diabetes Mellitus tipo 2⁸⁰.

Los trabajos en **pacientes lúpicos** como los de Reynolds *et al*⁸⁷ (4 pacientes con DM 2 de un total de 75 mujeres lúpicas) y Mok *et al*⁸⁸ (8 pacientes con DM 2 de un total de 290 mujeres lúpicas), al igual que nuestro estudio, tampoco demuestran asociación entre 25 hidroxivitamina D y Diabetes Mellitus, con la misma limitación del número de pacientes diabéticos incluidos.

No existe asociación entre el índice de masa corporal o síndrome metabólico con la concentración sérica de la 25 hidroxivitamina D. Esta afirmación, contrasta con algunos trabajos realizados en la **población general**^{160,161,168}, aunque diferentes estudios con **pacientes lúpicos**^{87,73,59} tampoco refieren asociación de la deficiencia de vitamina D con la obesidad, síndrome metabólico o el índice de masa corporal.

No se encontraron diferencias significativas respecto a la relación de la deficiencia de 25 hidroxivitamina D con el resto de factores de riesgo cardiovascular más frecuentes en

nuestro grupo de pacientes: ***tabaquismo e historia familiar de enfermedad cardiovascular previa***, a diferencia de otro grupo en población general que encuentra asociación de la deficiencia de 25 hidroxivitamina D y el tabaquismo¹⁵⁶. En el LES, no se ha encontrado relación del nivel sérico de 25 hidroxivitamina D y el tabaquismo^{59,87}. No encontramos series con pacientes con LES que hayan tenido en cuenta la historia familiar de enfermedad cardiovascular previa.

Respecto al ***número de factores de riesgo cardiovascular, no se encontraron diferencias significativas en relación a la concentración de 25 hidroxivitamina D en el suero de las pacientes***. No hallamos trabajos en la literatura que investigasen la influencia de la concentración sérica de vitamina D en el LES y hayan tenido en cuenta este parámetro.

4. 25 HIDROXIVITAMINA D Y MARCADORES DE INFLAMACIÓN

En ***nuestra serie***, se observó ***asociación inversa significativa entre los niveles de 25 hidroxivitamina D y la concentración de PCR-us y Dímero D***.

Esta asociación, coincide con otros estudios en **población general** en los que se ha suplementado con vitamina D y se han objetivado cambios en el valor de la proteína C reactiva¹⁷⁵. Algunos autores afirman que al suplementar con vitamina D, disminuye el valor de proteína C reactiva¹⁷⁶. Sin embargo otros autores concluyen que no existe relación entre la concentración sérica de 25 hidroxivitamina D y el valor de la proteína C reactiva¹⁷⁷.

La deficiencia de la vitamina D y la elevación de la **PCR-us** se han relacionado con la obesidad¹⁷⁸, que es un factor bien establecido de riesgo CV. La PCR-us está descrita en la población general, como biomarcador inflamatorio predictor de eventos cardiovasculares, dado su papel en la aterogénesis¹⁷⁹. El proceso de la adherencia celular, la unión de monocitos y macrófagos y la migración de células del sistema inmune a través del endotelio

son pasos cruciales en la aterogénesis temprana y en los estadios tardíos de ruptura de la placa, en especial en la transición de placa inestable a trombosis aguda. Hay una gran evidencia clínica de que muchos marcadores de inflamación están elevados previamente a infarto de miocardio o trombosis y estos mismos biomarcadores son altamente predictivos de infarto de miocardio recurrente, trombosis recurrente, diabetes y muerte de origen cardiovascular¹⁷⁹.

En el LES, Wu *et al*⁵⁹ evidenció una correlación débil entre los niveles séricos bajos de 25 hidroxivitamina D y los niveles elevados de PCR-us. La PCR se ha asociado a daño orgánico y se ha propuesto como útil en la identificación de pacientes de riesgo¹⁸⁰.

Así mismo, el **dímero D** es un marcador también de inflamación que se ha involucrado en el papel de la aterogénesis. El dímero D es un producto de la degradación de la fibrina, implicado en la trombogénesis y en definitiva, en patología cardiovascular. En un estudio en la población general se ha investigado la asociación entre la 25 hidroxivitamina D con marcadores de inflamación y homeostasis¹⁶⁸, se determinaron la proteína C reactiva, el fibrinógeno y el dímero D en pacientes de raza caucásica, entre otros marcadores, observándose para todos una correlación inversa significativa con los niveles séricos de vitamina D.

Erem *et al*¹⁸¹ en 2008, relaciona pacientes con hiperparatiroidismo primario a los que se les presupone deficiencia de vitamina D, con niveles altos de dímero D.

No hemos encontrado trabajos en la literatura que relacionen los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D con el dímero D en pacientes con LES.

El grupo de Wu *et al*⁵⁹ describe una asociación inversa de la vitamina D con el fibrinógeno que en nuestro trabajo no se evidencia.

5. 25 HIDROXIVITAMINA D Y FACTORES RELACIONADOS CON EL LES

La concentración de la 25 hidroxivitamina D no se relaciona con la afectación sistémica de la enfermedad. No encontramos relación de los niveles de la 25 hidroxivitamina D con ningún tipo de afectación lúpica.

Sin embargo otros autores sí encontraron relación de la hipovitaminosis D con la fotosensibilidad y la afectación renal^{88,89,156}.

Grupos españoles como el de Cutillas-Marco *et al*⁵⁶ concluyeron que la existencia de manifestaciones cutáneas del LES era predictora de insuficiencia de 25 hidroxivitamina D, al igual que Reynolds *et al*⁸⁷ y Hamza *et al*⁹⁰ que también encontraron relación inversa con la fotosensibilidad. Esta manifestación es común en el LES y es muy frecuente en estos pacientes, el uso de protectores solares. Esto podría deberse a que el 90% de la vitamina D se sintetiza en la piel y las pacientes con enfermedad más activa, se protegen más de la luz solar. Sin embargo Mok *et al*⁸⁸ no evidenciaron relación con la fotosensibilidad. Estas diferencias halladas en la relación entre los niveles séricos de vitamina D y la afectación dermatológica pueden ser debidas a diferencias estacionales y al grado de protección solar.

En cuanto a la afectación renal, Mok *et al*⁸⁸ encuentra relación de la hipovitaminosis D con la afectación renal, además de afectación hematológica y musculoesquelética, a diferencia de otros autores como el grupo de Wu *et al*⁵⁹ que no encontraron relación entre la hipovitaminosis D con la afectación renal y factores de riesgo CV, aunque el tamaño muestral era pequeño en este último estudio.

Artaza *et al*⁸⁵ han sugerido que, pacientes con enfermedad renal crónica tratados con formas activas de la vitamina D, tienen una mayor supervivencia que aquellos no tratados. Existen datos que relacionan niveles elevados de vitamina D con disminución de la proteinuria.

En la literatura, existen trabajos que sugieren que los niveles séricos suficientes de vitamina D podrían beneficiar otras manifestaciones como astenia y disfunción cognitiva¹²¹, pero en nuestro trabajo no hemos valorado estas manifestaciones.

No existe asociación entre los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D y la actividad en el LES. Nuestro estudio no ha evidenciado diferencias significativas entre la concentración de 25 hidroxivitamina D y la actividad en el LES determinada por el **SLEDAI**. Estos datos concuerdan con otras series^{57,89,158,182,183}.

Varios grupos de trabajo con mayor número de pacientes, sí han descrito asociación inversa significativa entre niveles bajos de 25 hidroxivitamina D y la actividad en el LES^{55,58,59,87,88,184}, aunque algunos autores no hicieron distinción entre actividad clínica o serológica del LES⁵⁵. Para otros, la asociación entre la concentración de vitamina D y actividad era más fuerte para los niveles más bajos de vitamina D y más altos de SLEDAI⁸⁷, mientras que nuestras pacientes estaban en su mayoría inactivas porque eran reclutadas en consultas de rutina.

La diferencia de resultados de los distintos estudios podría deberse a que discrepaban en el tamaño de la muestra, la variación estacional de los niveles de vitamina D, el porcentaje de pacientes con enfermedad activa y la distribución de la actividad de la enfermedad en distintos órganos^{156,185}. Es posible que en nuestro estudio no hayamos obtenido significación por el pequeño tamaño muestral.

En cuanto a la actividad serológica de la enfermedad lúpica, no encontramos relación entre los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D y la cifra de complemento o los títulos de anticuerpos relacionados con el LES.

Esto concuerda con otros grupos como el de Reynolds *et al*⁸⁷, que tampoco encontraron asociación significativa entre los niveles de 25 hidroxivitamina D y los títulos de

antidsDNA o las cifras de C3 o C4. Por el contrario, Mok *et al*⁸⁹ evidenciaron que los niveles bajos de 25 hidroxivitamina D correlacionaban con la actividad serológica (antiC1q y antidsDNA). Esto sugiere que la vitamina D podría asociarse a una hiperactividad de células B y a un aumento de la producción de anticuerpos pero no a una activación del complemento⁹⁹. En general, estos estudios tienen como limitación el tamaño muestral y el diseño transversal, así como la ausencia de un seguimiento prolongado en el tiempo.

En nuestro trabajo, encontramos ***una tendencia cercana a la significación estadística entre los niveles de 25 hidroxivitamina D y el daño orgánico, a mayor concentración de 25 hidroxivitamina D, mayor daño orgánico medido por SLICC/ACR***. Estos datos concuerdan con los de Wu *et al*⁵⁹, que observaron una tendencia similar, pero contrastan con el trabajo de Mok *et al*⁸⁸ que no encontraron relación significativa.

Por último, ***la concentración de la 25 hidroxivitamina D, no se relacionó con el tratamiento recibido por el LES***. Las pacientes en tratamiento con antimaláricos e inmunosupresores presentaban niveles ligeramente inferiores de 25 hidroxivitamina D ($44,90 \pm 20,74$ nmol/l) frente a las pacientes que solo tomaban antimaláricos ($49,13 \pm 21,81$ nmol/l).

El tratamiento con **esteroides y anti-maláricos** parece que altera el metabolismo de la vitamina D^{186,187}. Mok *et al*⁸⁸ consideraron que el uso crónico de los glucocorticoides y de la hidroxicloroquina, probablemente justificase en parte la deficiencia de vitamina D, dado que aumentan el aclaramiento plasmático de la vitamina. También atribuyen los niveles séricos bajos de 25 hidroxivitamina D, a que sólo un 24% de los pacientes estaba suplementado con vitamina D.

En aquellas publicaciones que estudian específicamente el papel de la **hidroxicloroquina** en el metabolismo de la vitamina D, Irastorza *et al*⁸⁹ encontraron, que las pacientes en tratamiento con antimaláricos, presentaban niveles más elevados de 25

hidroxivitamina D. Sin embargo, Huisman *et al*¹⁵⁵ encontraron niveles bajos de la 1,25 hidroxivitamina D en pacientes con LES, sin encontrar diferencias en los niveles de la 25 hidroxivitamina D, entre los tratados y no tratados con hidroxicloroquina. Esto podría explicarse porque los antimaláricos inhiben la 1 α hidroxilación de la 25 hidroxivitamina D disminuyendo los niveles de la forma más activa de la vitamina D. No obstante, se ha sugerido, que el fármaco podría tener un efecto beneficioso sobre el riesgo vascular, a través de mecanismos antitrombóticos¹⁴.

En cuanto al tratamiento con **esteroides**, Barré *et al*¹⁸⁸ y Carvalho *et al*¹⁸⁹ afirmaron, que sería posible que los pacientes lúpicos con enfermedad más activa, tratados con corticoides de manera más intensa, estén predispuestos a presentar déficit de vitamina D, dado que los corticoides aumentan el aclaramiento plasmático de la vitamina D, aunque concluyen que serían necesarios estudios controlados con placebo, suplementando con vitamina D, que demostrasen que la actividad de la enfermedad disminuye.

Los datos sobre si los corticoides son pro- o anti- aterogénicos, son controvertidos, pero algunos sugieren que dosis altas de corticoides serían anti-aterogénicos, dado que la progresión de la aterosclerosis subclínica se correlaciona con una menor dosis de corticoides y una terapia inmunosupresora menos intensa, que mantendría una actividad latente de la enfermedad, con mayor daño de la pared arterial¹⁴. En otros estudios el uso de corticoides se ha definido como pro-aterogénico y se ha asociado a un mayor índice de grosor intima-media arterial y frecuencia de placa aterosclerótica en pacientes con artritis reumatoide¹⁹⁰ y en necropsias de pacientes con LES¹⁰.

Para concluir el estudio de la relación entre el tratamiento de las pacientes recibido por su LES y la concentración sérica de la 25 hidroxivitamina D, encontramos estudios publicados, como el de Reynolds *et al*⁸⁷, que a diferencia de los autores anteriores, no encontraron asociación entre la concentración de 25 hidroxivitamina D y el tratamiento con antimaláricos, corticoides o inmunosupresores.

6. 25 HIDROXIVITAMINA D Y ARTERIOSCLEROSIS SUBCLÍNICA

Evidenciamos ***correlación directa entre la concentración de 25 hidroxivitamina D y la rigidez arterial determinada por la velocidad onda pulso y el grosor íntima media arterial***. A mayor concentración sérica de la vitamina D, encontramos en nuestras pacientes mayor rigidez arterial con mayor velocidad de onda pulso ($r=0,35$ y $p=0,02$) y mayor grosor íntima media ($r=0,36$ y $p=0,01$).

Estos resultados fueron paradójicos conforme a lo que esperábamos encontrar, por lo que analizamos el papel de la calcemia y la toma de suplementos.

Al analizar la concentración de calcio sérico objetivamos que las pacientes con VOP patológica presentaban niveles más elevados de calcio sérico que las pacientes con VOP normal e igualmente una ***correlación positiva*** entre los niveles de ***calcio sérico y la rigidez arterial determinada por la velocidad onda pulso y el grosor íntima media arterial***.

Cuando analizamos la influencia de la ***toma de suplementos de vitamina D y calcio***, aunque hubo diferencias significativas en los niveles de 25 hidroxivitamina D, no las hubo en los niveles de calcio sérico.

Al tener en cuenta la influencia de la toma de suplementos de vitamina D y calcio, encontramos que un **64,7 % de las pacientes con VOP patológica estaban suplementadas con calcio y vitamina D** y presentaron ***niveles más elevados de calcio sérico en el límite de la significación estadística***. Así mismo, ***las pacientes con GIM patológico, presentaron una concentración de calcio sérico significativamente más alta*** ($p=0,041$) que las pacientes con GIM normal.

Por todo ello, pensamos que niveles séricos elevados de calcio y vitamina D pueden jugar un papel deletéreo en la pared vascular determinando depósito de calcio en ella. El significado que puede tener la toma de suplementos farmacológicos no queda claro, aunque

podría intervenir en algún subgrupo de pacientes, si bien no son descartables otros factores de confusión.

En la **población general**, la asociación de la concentración de la vitamina D con la arteriosclerosis es contradictoria. Por un lado, la deficiencia de la vitamina D se ha asociado a arteriosclerosis coronaria y carotídea^{104,191}. El aumento de la rigidez aórtica, medida por la velocidad de onda pulso, predice eventos cardiovasculares. Sin embargo, niveles séricos elevados de vitamina D, como ocurre en la sobredosificación, podrían inducir hipercalcemia, hiperfosfatemia, y aumento de los niveles de factor de crecimiento fibroblástico 23, con daño endotelial¹³⁸. Así mismo, en la literatura se ha descrito la relación entre la toma de suplementos de vitamina D y calcio con mayor calcificación arterial, rigidez vascular y arteriosclerosis¹²⁶.

Actualmente, la comunidad científica debate si la administración de vitamina D y calcio se asocia a un incremento del riesgo cardiovascular. El estudio WHI con seguimiento durante 7 años de 36282 mujeres postmenopáusicas con administración de 1000 mg de calcio y 400 UI de vitamina D no ha podido detectar daño cardiovascular en relación al tratamiento con calcio y vitamina D¹⁶⁶. El tratamiento con dosis moderadas de calcio y vitamina D no parece relacionarse con la calcificación coronaria¹⁹². Sin embargo, un reciente reanálisis del estudio WHI, ha incluido los suplementos de calcio y vitamina D que las pacientes tomaban por su cuenta. Los autores concluyen que el tratamiento con calcio, con o sin vitamina D, incrementaba modestamente el riesgo de enfermedad cardiovascular¹²⁶. Así mismo, existe un estudio que ha observado un aumento del riesgo de enfermedad coronaria en mujeres que tomaron suplementos de calcio y vitamina D¹⁹³. Estos hallazgos han hecho a la comunidad científica, volver a cuestionarse un viejo paradigma: ¿podría resultar finalmente la suplementación con calcio en la osteoporosis, perjudicial para la salud

vascular?. Los datos expuestos hasta la fecha, son contradictorios por lo que aún es pronto para sacar conclusiones respecto a la seguridad de la toma de suplementos de calcio.

En el momento actual, dos estudios a gran escala están estudiando los efectos cardiovasculares de la suplementación con vitamina D: el estudio “VITAL” (NCT01169259) y el estudio “Role of Vitamin D in secondary prevention of cardiovascular events” (NCT01018849). El primero, incluye a 20.000 adultos mayores de 60 años con suplementación diaria con 2.000 UI de vitamina D. El segundo, administra 150.000 UI de vitamina D3 o el placebo, cada 2 meses. Estos estudios, junto a otros como el “Vitamin D3-Omega 3-Home exercise-Healthy Aging and Longevity Trial and Health Economic Impact Evaluation (DO-HEALTH)”, contribuirán a obtener una mayor evidencia en dicho campo.

Los estudios descritos **en el LES** son escasos, de corte transversal, con un pequeño tamaño muestral y presentan también resultados contradictorios.

Por un lado los grupos de Mok *et al*⁸⁸ y Wu *et al*⁵⁹, no evidenciaron asociación entre la arteriosclerosis subclínica y la concentración sérica de 25 hidroxivitamina D. Mok *et al*⁸⁸ no encontraron relación entre los niveles de 25 hidroxivitamina D y un mayor grosor intima-media carotídeo o la presencia de calcificación coronaria, tal vez debido a un sesgo en cuanto a que no normalizaron el estudio por edad o por medición de la placa en donde se presenta arteriosclerosis. Wu *et al*⁵⁹ tampoco establecieron relación entre la concentración sérica de 25 hidroxivitamina D, y el grosor intima media arterial, placa carotídea o calcificación coronaria y aórtica.

Por otro lado, los estudios de Reynolds *et al*⁸⁷ y Ravenell *et al*¹⁰⁸ describieron una asociación significativa negativa entre los niveles en el suero de 25 hidroxivitamina D y el desarrollo de arteriosclerosis subclínica. Reynolds *et al*⁸⁷ publicaron el primer estudio que demuestra asociación entre la concentración sérica de la 25 hidroxivitamina D y enfermedad

cardiovascular subclínica en pacientes con LES. Demostraron una asociación inversa entre los niveles de 25 hidroxivitamina D sérica y la rigidez aórtica determinada por la velocidad de onda pulso, pero no con la existencia de mayor grosor intima-media o placa carotídea. Esta asociación persistió después de ajustar por FRCV tradicionales e IMC. En este trabajo la diferencia de la velocidad de onda pulso entre los grupos con deficiencia de vitamina D y el normal, fue de 2,8 m/s. Ravenell *et al*¹⁰⁸ describieron el primer estudio en población lúpica afroamericana que relacionó la deficiencia de vitamina D de manera significativa con la presencia de arteriosclerosis subclínica. Encontraron asociación entre la ausencia de tratamiento con IECAs e hidroxicloroquina, la hipercolesterolemia y niveles bajos de 25 hidroxivitamina D en el suero con un aumento del área de placa carotídea total (TPA). Es el primer estudio que ha relacionado inversamente IECAs y TPA en pacientes LES.

Serían necesarios estudios longitudinales de los que no disponemos hasta el momento, para confirmar los datos descritos. Existen diferencias importantes en cuanto al tiempo de desarrollo de rigidez vascular comparado con el aumento de grosor IMT o placa carotídea. Mientras que la arteriosclerosis, aparece despacio en el curso de años, la rigidez vascular es un proceso dinámico más precoz y puede cambiar en respuesta al tratamiento en poco tiempo¹⁹⁴. Una sola determinación sérica de la 25 hidroxivitamina D por tanto, podría tener relación con la velocidad de onda pulso arterial, como afirman Reynolds *et al*⁸⁷, pero no ser suficiente para reflejar su asociación con el aumento del grosor íntima-media o desarrollo de placa carotídea, lo cual se desarrolla con la progresión de los años.

Para finalizar el estudio de la relación entre la concentración de 25 hidroxivitamina D y la arteriosclerosis subclínica, evidenciamos que no existía asociación entre la clasificación de las pacientes según sus niveles séricos de 25 hidroxivitamina D y el porcentaje de las células progenitoras endoteliales y células endoteliales apoptóticas, aunque observamos una **tendencia a que las pacientes con niveles más elevados de 25 hidroxivitamina D**

presentaban un mayor porcentaje de células progenitoras endoteliales. Estos datos concuerdan con lo descrito en **población general** por Mikirova *et al*¹¹⁴ y Cardus *et al*¹¹⁵ y que relacionan la concentración sérica de la vitamina D con un mayor porcentaje de células progenitoras endoteliales. Estas células se generan en la médula ósea y contribuyen a reparar el endotelio dañado en la arteriosclerosis. Se piensa que el receptor de la 1,25-hidroxivitamina D, al activarse, aumenta la expresión del factor de crecimiento vascular del endotelio (VEGF) en las células del músculo liso. El VEGF aumenta la actividad en el endotelio de la Sintetasa de Oxido Nítrico y aumenta el número de progenitores de células endoteliales responsables de reparar el endotelio¹¹⁵. Así mismo, la vitamina D podría tener un papel en la proliferación de las células pluripotenciales, por lo que el aumento de los niveles circulantes de células progenitoras en sujetos con niveles suficientes de vitamina D, podría verse explicado por la capacidad de la vitamina D para modular el número de células pluripotenciales y de diferenciar esas células hacia el fenotipo de células progenitoras¹¹⁶. No hemos encontrado trabajos que relacionen específicamente el porcentaje de células progenitoras endoteliales, con la concentración sérica de la 25 hidroxivitamina D en el **Lupus Eritematoso Sistémico**.

Este trabajo de investigación tiene algunas **limitaciones** que deben ser consideradas. En primer lugar, que el número de pacientes que pudieron incluirse fue limitado. Segundo, el propio diseño del estudio, al tratarse de un estudio transversal basado en una sola determinación en el suero de la concentración de 25 hidroxivitamina D y en una sola medida puntual de la VOP y del GIM, con una determinación única de CPE, aunque los estudios que investigan la influencia de los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D en el desarrollo de arteriosclerosis subclínica en el LES tienen limitaciones semejantes.

En resumen y para concluir la discusión, parece ser que las pacientes lúpicas tienen niveles bajos de vitamina D en el suero. Pero los niveles séricos más altos de vitamina D, corresponden a pacientes con hipertensión arterial, hipercolesterolemia en tratamiento con estatinas, con menor valor de PCR-us y Dímero D, mayor daño orgánico, mayor rigidez arterial y mayor porcentaje de células progenitoras endoteliales. Algunos de estos datos, contrastan con los estudios realizados en la población general, en la que tasas más elevadas de vitamina D sugieren un papel protector en el desarrollo de arteriosclerosis. Nuestros hallazgos sugieren, que la ingesta de suplementos de calcio y vitamina D, aumentan los niveles séricos de la vitamina D pero no modifican la calcemia, aunque las pacientes con VOP patológica en su mayoría tomaban suplementos farmacológicos y tenían niveles séricos de calcio más elevados. El significado que puede tener la toma de suplemento de vitamina D y calcio en la patogenia de la lesión vascular no queda claro, aunque podría intervenir en algún subgrupo de pacientes, si bien no son descartables otros factores de confusión. Estos resultados, podrían suponer un motivo de precaución en la toma de calcio y vitamina D en las pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico, aunque para ello serían necesarios estudios prospectivos longitudinales, con una mayor población y con un mayor seguimiento.

CONCLUSIONES

1. **La concentración media de 25 hidroxivitamina D** en nuestra serie de cuarenta y siete pacientes lúpicas era baja y podría ser clasificada como **insuficiente**. Las pacientes en **tratamiento con calcio y vitamina D** tenían niveles de vitamina D séricos significativamente más elevados.
2. Las pacientes **hipertensas** presentaron una **concentración de 25 hidroxivitamina D significativamente superior** a la de las pacientes normotensas. No se encontró ningún tipo de relación con otros factores de riesgo cardiovascular, aunque se observó una tendencia en las pacientes hipercolesterolémicas tratadas con **estatinas**, a presentar **mayores niveles de 25 hidroxivitamina D** en el suero. En cuanto a la determinación de biomarcadores inflamatorios de riesgo cardiovascular, se objetivó una **correlación inversa** entre la concentración sérica de la 25 hidroxivitamina D y el valor de la **PCR-us y el dímero D**.
3. **No se observaron diferencias en la concentración de 25 hidroxivitamina D sérica según la afectación lúpica, la actividad de la enfermedad** medida por el SLEDAI, la actividad serológica **o el tratamiento** que estaban recibiendo las pacientes por el LES. Sin embargo, las pacientes con **daño orgánico** muestran una **tendencia cercana a la significación estadística** a presentar **concentraciones séricas más elevadas de 25 hidroxivitamina D**.
4. Existe una **correlación directa** entre la concentración de 25 hidroxivitamina D sérica y la rigidez arterial determinada por la velocidad onda pulso y el grosor íntima media, así como una **correlación directa de los niveles de calcio sérico con el grosor íntima-media y la velocidad de onda pulso**. Aunque una mayoría de las pacientes con VOP patológica estaban suplementadas con vitamina D y calcio y tenían niveles más elevados de calcio sérico, no podemos concluir sobre el papel de estos suplementos en la patogenia de la lesión vascular.
5. Las pacientes con **niveles suficientes de 25 hidroxivitamina D** presentaron una tendencia a un **mayor porcentaje de células progenitoras endoteliales**.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ **Urowitz M, Bookman A, Koehler B, Gordon D.** *The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus.* The American Journal of Medicine 1976; 60: 221-225.
- ² **Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, Gough J.** *Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single center. I. Causes of death.* The Journal of Rheumatology 1995; 22(7): 1259-1264.
- ³ **Petri M, Perez-Gutthann S, Spence D, Hochberg M.** *Risk factors for coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus.* The American Journal of Medicine 1992; 93: 513-519.
- ⁴ **Manzi S, Meilahn E, Rairie J, Conte C, Medsger T Jr, Jansen-McWilliams L, D'Agostino RB, Kuller LH.** *Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with Framingham study.* American Journal of Epidemiology 1997; 145(5): 408-415.
- ⁵ **Urowitz M, Ibañez D, Gladman D.** *Atherosclerotic vascular events in a single large lupus cohort: prevalence and risk factors.* The Journal of Rheumatology 2007; 34: 70-75.
- ⁶ **Urowitz M, Gladman D, Ibañez D, Fortin P, Sánchez-Guerrero J, Bae S, Clarke A, Bernatsky S, Gordon C, Hanly J, Wallace D, Isenberg D, Ginzler E, Merrill J, Alarcon G, Steinsson K, Petri M, Dooley MA, Bruce I, Manzi S, Khamashta M, Ramsey-Goldman R, Zoma A, Sturfelt G, Niced O, Maddison P, Font J, van Vollenhovem R, Aranow C, Kalunian K, Stoll T, Buyon J.** *Clinical manifestations and coronary artery disease risk factors at diagnosis of systemic lupus erythematosus: data from an international inception cohort.* Lupus 2007; 16: 731-735.
- ⁷ **Fischer L, Schlienger R, Matter C, Jick H, Meier C.** *Effect of Rheumatoid arthritis or systemic lupus erythematosus on the risk of first-time acute myocardial infarction.* The American Journal of Cardiology 2004; 93: 198-200.
- ⁸ **Bernatsky S, Boivin J.-F, Joseph L, Manzi S, Ginzler E, Gladman D, Urowitz M, Fortin PR, Petri M, Barr S, Gordon C, Bae SC, Isenberg D, Zoma A, Aranow C, Dooley MA, Nived O, Sturfelt G, Steinsson K, Alarcón G, Senécal JL, Zummer M, Hanly J, Ensworth S, Pope J, Edworthy S, Rahman A, Sibley J, El-Gabalawy H, McCarthy T, St. Pierre Y, Clarke A, Ramsey-Goldman R.** *Mortality in systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2006; 54(8): 2550-2557.
- ⁹ **Bruce IN, Urowitz M, Gladman D, Ibañez D, Steiner G.** *Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2003; 48(11): 3159-3167.
- ¹⁰ **Esdaile J, Abrahamowicz M, Grodzicky T, Li Y, Panaritis C, Du Berger R, Côte R, Grover SA, Fortin PR, Clarke AE, Senécal JL.** *Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2001; 44(10): 2331-2337.
- ¹¹ **Rahman P, Urowitz M, Gladman D, Bruce IN, Genest J Jr.** *Contribution of traditional risk factors to coronary artery disease in patients with systemic lupus erythematosus.* The Journal of Rheumatology 1999; 26(11): 2363-2368.

-
- ¹² **Papamichael CM, Lekakis JP, Stamatelopoulos KS, Papaioannou TG, Alevizaki MK, Cimponeriu AT, Kanakakis JE, Papapanagiotou A, Kalofoutis AT, Stamatelopoulos SF.** *Ankle-brachial index as a predictor of the extent of coronary atherosclerosis and cardiovascular events in patients with coronary artery disease.* The American Journal of Cardiology 2000; 86(6): 615-618.
- ¹³ **Theodoridou A, Bento L, D'Cruz D, Khamashta M, Hughes G.** *Prevalence and associations of an abnormal ankle-brachial index in systemic lupus erythematosus: a pilot study.* Annals of the Rheumatic Diseases 2003; 62: 1199-1203.
- ¹⁴ **Roman M, Shanker B-A, Davis A, Lockshin M, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, Schwartz JE, Paget SA, Devereux RB, Salmon JE.** *Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus.* The New England Journal of Medicine 2003; 349: 2399-2406.
- ¹⁵ **Ahmad Y, Bruce INN.** *Subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus.* The Journal of Rheumatology 2004; 31(5): 841-843.
- ¹⁶ **Manzi S, Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Rairie JE, Tracy RP, Kuller LH.** *Prevalence and risk factors of carotid plaque in women with systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 1999; 42(1): 51-60.
- ¹⁷ **Roman M, Crow M, Lockshin M, Devereux R, Paget S, Sammaritano L, Levine DM, Davis A, Salmon JE.** *Rate and determinants of progression of atherosclerosis in systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2007; 56(10): 3412-3419.
- ¹⁸ **Asanuma Y, Oeser A, Shintani A, Turner E, Olsen N, Fazio S, Linton MF, Raggi P, Stein CM.** *Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus.* The New England Journal of Medicine 2003; 349: 2407-2415.
- ¹⁹ **Kiani A, Magder L, Petri M.** *Coronary calcium in systemic lupus erythematosus is associated with traditional cardiovascular risk factors, but not with disease activity.* The Journal of Rheumatology 2008; 35: 1300-1306.
- ²⁰ **Yiu KH, Wang S, Mok MY, Ooi GC, Khong PL, Mak KF, Lam KF, Lau CS, Tse HF.** *Pattern of arterial calcification in patients with systemic lupus erythematosus.* The Journal of Rheumatology 2009; 36(10): 2212-2227.
- ²¹ **Bruce IN, Burns R, Gladman D, Urowitz M.** *Single photon emission computed tomography dual isotope myocardial perfusion imaging in women with systemic lupus erythematosus. I. Prevalence and distribution of abnormalities.* The Journal of Rheumatology 2000; 27: 2372-2377.
- ²² **Nikpour M, Gladman D, Ibañez D, Bruce IN, Burns R, Urowitz M.** *Myocardial perfusion imaging in assessing risk of coronary events in patients with systemic lupus erythematosus.* The Journal of Rheumatology 2009; 36(2): 288-294.
- ²³ **Sella E, Sato E, Oliveira J, Barbieri A.** *Myocardial perfusion and coronary disease risk factors in systemic lupus erythematosus.* Annals of the Rheumatic Diseases 2003; 62: 1066-1070.
- ²⁴ **Ross R.** *Atherosclerosis and inflammatory disease.* The New England Journal of Medicine 1999; 340(2): 115-126.

- ²⁵ Lima DS, Sato EI, Lima VC, Miranda F Jr, Hatta FH. *Brachial endothelial function is impaired in patients with systemic lupus erythematosus*. The Journal of Rheumatology 2002; 29(2): 292-297.
- ²⁶ El-Magadmi M, Bodill H, Ahmad Y, Durrington PN, Mackness M, Walker M, Bernstein RM, Bruce INN. *Systemic lupus erythematosus: an independent risk factor for endothelial dysfunction in women*. Circulation 2004; 110(4): 399-404.
- ²⁷ Valdivielso P, Gómez-Doblas J.J, Macias M, Haro-Liger M, Fernández-Nebro A, Sánchez-Chaparro M.A, González-Santos P. *Lupus-associated endothelial dysfunction, disease activity and arteriosclerosis*. Clinical and Experimental Rheumatology 2008; 26: 827-833.
- ²⁸ Poredos P. *Intima-media thickness: indicator of cardiovascular risk and measure of the extent of atherosclerosis*. Vascular Medicine 2004; 9(1): 46-54.
- ²⁹ O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. *Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults*. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. The New England Journal of Medicine 1999; 340(1): 14-22.
- ³⁰ De Leeuw K, Smit A, De Groot E, Van Roon A, Kallenberg C, Bijl M. *Longitudinal study on premature atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus*. Atherosclerosis 2009; 206: 546-550.
- ³¹ Shang Q, Tam LS, Li EK, Yip GW, Yu CM. *Increased arterial stiffness correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus*. Lupus 2008; 17(12): 1096-1102.
- ³² Colombo BM, Murdaca G, Caiti M, Rodriguez G, Grassia L, Rossi E, Indiveri F, Puppo F. *Intima-media thickness: a marker of accelerated atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus*. Annals of the New York Academy of Sciences 2007 ; 1108: 121-126.
- ³³ Cacciapaglia F, Zardi EM, Coppolino G, Buzzulini F, Margiotta D, Arcarese L, Vadacca M, Amoroso A, Afeltra A. *Stiffness parameters, intima-media thickness and early atherosclerosis in systemic lupus erythematosus patients*. Lupus 2009; 18(3): 249-256.
- ³⁴ Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. *Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis*. Journal of the American College of Cardiology 2010;55:1318-27.
- ³⁵ Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald S, Tracy R, Kuller L, Manzi S. *Vascular stiffness in women with systemic lupus erythematosus*. Hypertension 2001; 37(4):1075-82.
- ³⁶ Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald SG, Pratt JE, Tracy RP, Kuller LH, Manzi S. *Comparison of risk factors for vascular disease in the carotid artery and aorta in women with systemic lupus erythematosus*. Arthritis & Rheumatism 2004; 50(1): 151-159.
- ³⁷ Tso TK, Huang WN, Huang HY, Chang CK. *Association of brachial-ankle pulse wave velocity with cardiovascular risk factors in systemic lupus erythematosus*. Lupus 2005; 14(11): 878-883.
- ³⁸ Sabio JM, Vargas-Hitos J, Zamora-Pasadas M, Mediavilla JD, Navarrete N, Ramirez A, Hidalgo-Tenorio C, Jáimez L, Martín J, Jiménez-Alonso J; Grupo Lupus Virgen de las Nieves. *Metabolic syndrome is associated with increased arterial stiffness and biomarkers of subclinical atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus*. The Journal of Rheumatology 2009; 36: 2204-2211.

- ³⁹ **Maksimowicz-McKinnon K, Magder L, Petri M.** *Predictors of carotid atherosclerosis in systemic lupus erythematosus.* The Journal of Rheumatology 2006; 33: 2458-2463.
- ⁴⁰ **Muscari A, Bozzoli C, Puddu GM, Sangiorgi Z, Dormi A, Rovinetti C, Descovich GC, Puddu P.** *Association of serum C3 levels with the risk of myocardial infarction.* The American Journal of Medicine 1995; 98(4): 357-364.
- ⁴¹ **Manger K, Kusus M, Forster C, Ropers D, Daniel WG, Kalden JR, Achenbach S, Manger B.** *Factors associated with coronary artery calcification in young female patients with SLE.* Annals of the Rheumatic Diseases 2003; 62(9): 846-850.
- ⁴² **Thompson T, Sutton-Tyrrell K, Wildman R, Kao A, Fitzgerald S, Shook B, Tracy RP, Kuller LH, Brockwell S, Manzi S.** *Progression of carotid intima-media thickness and plaque in women with systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2008; 58(3): 835-842.
- ⁴³ **Bulkley BH, Roberts W.** *The heart in systemic lupus erythematosus and the changes induced in it by corticosteroid therapy.* The American Journal of Medicine 1975; 58: 243-264.
- ⁴⁴ **Karp I, Abrahamowicz M, Fortin P, Pilote L, Neville C, Pineau C, Esdaile JM.** *Recent corticosteroid use and recent disease activity: independent determinants of coronary heart disease risk factors in systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2008; 59(2): 169-175.
- ⁴⁵ **Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Böhm M, Nickenig G.** *Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes.* The New England Journal of Medicine 2005; 353: 999–1007.
- ⁴⁶ **Grisar J, Aletaha D, Steiner CW, Kapral T, Steiner S, Säemann M, Schwarzingner I, Buranyi B, Steiner G, Smolen JS.** *Endothelial progenitor cells in active rheumatoid arthritis: effect of tumour necrosis factor and glucocorticoid therapy.* Annals of the Rheumatic Diseases 2007; 66: 1284-1288.
- ⁴⁷ **Grisar J, Steiner CW, Bonelli M, Karonitsch T, Schwarzingner I, Weigel G, Steiner G, Smolen JS.** *Systemic lupus erythematosus patients exhibit functional deficiencies of endothelial progenitor cells.* Rheumatology (Oxford) 2008; 47(10): 1476-1483.
- ⁴⁸ **Moonen JR, de Leeuw K, van Seijen XJ, Kallenberg CG, van Luyn MJ, Bijl M, Harmsen MC.** *Reduced number and impaired function of circulating progenitor cells in patients with systemic lupus erythematosus.* Arthritis Research & Therapy 2007; 9(4): R84.
- ⁴⁹ **Westerweel PE, Luijten RK, Hoefer IE, Koomans HA, Derksen RH, Verhaar MC.** *Haematopoietic and endothelial progenitor cells are deficient in quiescent systemic lupus erythematosus.* Annals of the Rheumatic Diseases 2007; 66(7): 865-870.
- ⁵⁰ **Robak E, Kierstan M, Cebula B, Krawczynska A, Sysa-Jedrzejowska A, Wierzbowska A, Smolewski P, Robak T.** *Circulating endothelial cells and angiogenic proteins in patients with systemic lupus erythematosus.* Lupus 2009; 18(4):332-341.
- ⁵¹ **Michael F. Holick.** *Vitamin D Deficiency.* The New England Journal of Medicine 2007; 357:266-81.
- ⁵² **Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R.** *Estimates of optimal vitamin D status.* Osteoporosis International 2005;16:713-6

- ⁵³ **Clifford J. Rosen.** *Vitamin D Insufficiency.* The New England Journal of Medicine 2011; 364:248-54
- ⁵⁴ **Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB.** *The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know.* The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2011; 96, (1): 53-58.
- ⁵⁵ **Amital H, Szekanecz Z, Szücs G, Dankó K, Nagy E, Csépany T, Kiss E, Rovensky J, Tuchynova A, Kozakova D, Doria A, Corocher N, Agmon-Levin N, Orbach H, Zandman-Goddard, Shoenfeld Y.** *Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D?.* Annals of the Rheumatic Diseases 2010; 69:1155-7.
- ⁵⁶ **Cutillas-Marco E, Morales-Suárez-Varela M, Marquina- Vila A, Grant W.** *Serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with cutaneous lupus erythematosus in a Mediterranean region.* Lupus 2010; 19:810-4.
- ⁵⁷ **Kim HA, Sung JM, Jeon JY, Yoon JM, Suh CH.** *Vitamin D may not be a good marker of disease activity in Korean patients with systemic lupus erythematosus.* Rheumatology International 2011; 31(9): 1189-94.
- ⁵⁸ **Szodoray P, Tarr T, Bazso A, Poor G, Szegedi G, Kiss E.** *The immunopathological role of vitamin D in patients with SLE: data from a single centre registry in Hungary.* Scandinavian Journal of Rheumatology 2011;40:122-6.
- ⁵⁹ **Wu PW, Rhew EY, Dyer AR, Dunlop DD, Langman CB, Price H, Sutton-Tyrrell K, McPherson DD, Edmundowicz D, Kondos Gt, Ramsey-Goldman R.** *25-hydroxyvitamin D and cardiovascular risk factors in women with systemic lupus erythematosus.* Arthritis & Rheumatism 2009;61: 1387-95.
- ⁶⁰ **Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS.** *Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus.* Autoimmunity Reviews 2006;5:114-7.
- ⁶¹ **Tolosa SMA, Cole DEC, Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB.** *Vitamin D insufficiency in a large female SLE cohort.* Lupus 2010; 19, 13–19.
- ⁶² **Fleck A.** *Latitude and ischaemic heart disease.* Lancet 1989; 1:613.
- ⁶³ **Grimes DS, Hindle E, Dyer T.** *Sunlight, cholesterol and coronary heart disease.* QJM 1996;89:579– 89.
- ⁶⁴ **Douglas AS, Dunnigan MG, Allan TM, Rawles JM.** *Seasonal variation in coronary heart disease in Scotland.* Journal of Epidemiology & Community Health 1995;49:575–82.
- ⁶⁵ **Rostand SG.** *Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences.* Hypertension 1997; 30(2 Pt 1):150–6.
- ⁶⁶ **Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M.** *25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey.* Atherosclerosis 2009; 205, 255–260.
- ⁶⁷ **Kim DH, Sabour S, Sagar UN, Adams S, Whellan DJ.** *Prevalence of hypovitaminosis D in cardiovascular diseases (from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2004).* American Journal of Cardiology 2008; 102: 1540–4.

- ⁶⁸ **Judd SE, Nanes MS, Ziegler TR, Wilson PW, Tangpricha V.** *Optimal vitamin D status attenuates the age-associated increase in systolic blood pressure in white Americans: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey.* The American Journal of Clinical Nutrition 2008;87:136–41.
- ⁶⁹ **Hintzpeter B, Mensink GB, Thierfelder W, Müller MJ, Scheidt-Nave C.** *Vitamin D status and health correlates among German adults.* European Journal of Clinical Nutrition 2008; 62:1079–89.
- ⁷⁰ **Snijder MB, Lips P, Seidell JC.** *Vitamin D status and parathyroid hormone levels in relation to blood pressure: a population-based study in older men and women.* Journal of Internal Medicine 2007; 261:558–65.
- ⁷¹ **Melamed ML, Muntner P, Michos ED, Uribarri J, Weber C, Sharma J, Raggi P.** *Serum 25-hydroxyvitamin D levels and the prevalence of peripheral arterial disease: results from NHANES 2001 to 2004.* Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 2008; 28:1179–85.
- ⁷² **Reddy Vanga S, Good M, Howard PA, Vacek JL.** *Role of vitamin D in cardiovascular health.* American Journal of Cardiology 2010;106: 798-805.
- ⁷³ **Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP.** *1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system.* The Journal of Clinical Investigation 2002 ; 110:229–38.
- ⁷⁴ **Qiao G, Kong J, Uskokovic M, Li YC.** *Analogues of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3) as novel inhibitors of renin biosynthesis.* The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 2005 ; 96:59–66.
- ⁷⁵ **Yuan W, Pan W, Kong J, Zheng W, Szeto FL, Wong KE, Cohen R, Klopot A, Zhang Z, Li YC.** *1,25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter.* The Journal of Biological Chemistry 2007 ; 282: 29821–30.
- ⁷⁶ **Norman AW, Frankel JB, Heldt AM, Grodsky GM.** *Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin.* Science 1980; 209:823-5.
- ⁷⁷ **Mathieu C, Gysemans C, Giuliatti A, Bouillon R.** *Vitamin D and diabetes.* Diabetologia 2005;48:1247–57.
- ⁷⁸ **Liu E, Meigs JB, Pittas AG.** *Plasma 25-hydroxyvitamin d is associated with markers of the insulin resistant phenotype in non diabetic adults.* European Journal of Clinical Nutrition 2009; 139:329–34.
- ⁷⁹ **Scragg R, Sowers M, Bell C.** *Serum 25-hydroxyvitamin D, ethnicity, and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey.* American Journal of Hypertension 2007; 20:713-9.
- ⁸⁰ **Mattila C, Knekt P, Männistö S, Rissanen H, Laaksonen MA, Montonen J, Reunanen A.** *Serum 25-hydroxyvitamin D concentration and subsequent risk of type 2 diabetes.* Diabetes Care 2007; 30 : 2569–70.
- ⁸¹ **Rahman A, Hershey S, Ahmed S, Nibbelink KA, Simpson RU.** *Heart extracellular matrix gene expression profile in the vitamin D receptor knockout mice.* The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 2007; 103 : 416–9.

- ⁸² **Tishkoff DX, Nibbelink KA, Holmberg KH, Dandu L, Simpson RU.** *Functional vitamin D receptor (VDR) in the t- tubules of cardiac myocytes: VDR knockout cardiomyocyte contractility.* *Endocrinology* 2008 ; 149:558–64.
- ⁸³ **Simpson RU, Hershey SH, Nibbelink KA.** *Characterization of heart size and blood pressure in the vitamin D receptor knockout mouse.* *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2007;103:521–4.
- ⁸⁴ **London GM, Guérin AP, Verbeke FH, Pannier B, Boutouyrie P, Marchais SJ, Métivier F.** *Mineral metabolism and arterial functions in end-stage renal disease: potential role of 25-hydroxyvitamin D deficiency.* *Journal of the American Society of Nephrology* 2007; 18:613–20.
- ⁸⁵ **Artaza JN, Norris KC.** *Vitamin D reduces the expression of collagen and key profibrotic factors by inducing an antifibrotic phenotype in mesenchymal multipotent cells.* *The Journal of Endocrinology* 2009; 200:207– 21.
- ⁸⁶ **Sugden JA, Davies JI, Witham MD, Morris AD, Struthers AD.** *Vitamin D improves endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels.* *Diabetic Medicine* 2008; 25:320–5.
- ⁸⁷ **Reynolds JA, Haque S, Berry JL, Pemberton PP, Lee-Suan S, Ho P, Gorodkin R, Bruce IN.** *25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with increased aortic stiffness in patients with Systemic Lupus Erythematosus.* *Rheumatology (Oxford).* 2012 Mar ;51 (3):544-51
- ⁸⁸ **Mok CC, Birmingham DJ, Leung HW, Hebert LA, Song H, Brad H. Rovin.** *Vitamin D levels in Chinese patients with systemic lupus erythematosus: relationship with disease activity, vascular risk factors and atherosclerosis.* *Rheumatology* 2011; 51: 644–652.
- ⁸⁹ **Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Olivares N, Martinez-Berriotxo A, Aguirre C.** *Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence,predictors and clinical consequences.* *Rheumatology* 2008 ; 47: 920–923.
- ⁹⁰ **Hamza RT, Awwad KS, Ali MK, Hamed AI.** *Reduced serum concentrations of 25-hydroxy vitamin D in Egyptian patients with systemic lupus erythematosus: relation to disease activity.* *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2011; 17: CR711– 718.
- ⁹¹ **Bogaczewicz J, Sysa-Jedrzejowska A, Arkuszewska C, Zabek J, Kontny E.** *Vitamin D status in systemic lupus erythematosus patients and its association with selected clinical and laboratory parameters.* *Lupus* 2012; 21: 477–484.
- ⁹² **Borba VZ, Vieira JG, Kasamatsu T, Radominski SC, Sato EI.** *Vitamin D deficiency in patients with active systemic lupus erythematosus.* *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2009; 20: 427–433.
- ⁹³ **Yeap SS, Othman AZ, Zain AA, Chan SP.** *Vitamin D levels: its relationship to bone mineral density response and disease activity in premenopausal Malaysian systemic lupus erythematosus patients on corticosteroids.* *International journal of rheumatic diseases* 2012; 15: 17–24.

- ⁹⁴ **Ruiz-Irastorza G, Gordo S, Olivares N, Egurbide MV, Aguirre C.** *Changes in vitamin D levels in patients with systemic lupus erythematosus: Effects on fatigue, disease activity, and damage.* Arthritis care & research 2010 ; 62: 1160–1165.
- ⁹⁵ **Munoz-Ortego J, Torrente-Segarra V, Prieto-Alhambra D, Salman-Monte T, Carbonell-Abello J.** *Prevalence and predictors of vitamin D deficiency in non-supplemented women with systemic lupus erythematosus in the Mediterranean region: a cohort study.* Scandinavian Journal of Rheumatology Nov 2012, Vol. 41, No. 6: 472–475.
- ⁹⁶ **Fragoso TS, Dantas AT, Marques CD, Rocha Junior LF, Melo JH.** *25-Hydroxyvitamin D3 levels in patients with systemic lupus erythematosus and its association with clinical parameters and laboratory tests.* Revista brasileira de reumatologia 2012; 52: 60–65.
- ⁹⁷ **Thudi A, Yin S, Wandstrat AE, Li QZ, Olsen NJ.** *Vitamin D levels and disease status in Texas patients with systemic lupus erythematosus.* The American journal of the medical sciences 2008; 335: 99–104.
- ⁹⁸ **Bonakdar ZS, Jahanshahifar L, Jahanshahifar F, Gholamrezaei A.** *Vitamin D deficiency and its association with disease activity in new cases of systemic lupus erythematosus.* Lupus 2011. 20: 1155–1160.
- ⁹⁹ **Mok CC, Birmingham DJ, Ho LY, Hebert LA, Song H and Rovin BH.** *Vitamin D deficiency as marker for disease activity and damage in systemic lupus erythematosus: a comparison with anti-dsDNA and anti-C1q.* Lupus 2012; 21,36–42
- ¹⁰⁰ **Watson KE, Abrolat ML, Malone LL.** *Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification.* Circulation 1997; 96:1755– 1760.
- ¹⁰¹ **Young KA, Snell-Bergeon JK, Naik RG.** *Vitamin D deficiency and coronary artery calcification in subjects with type 1 diabetes.* Diabetes Care 2011; 34:454–458.
- ¹⁰² **Krasniak A, Drozd M, Pasowicz M.** *Factors involved in vascular calcification and atherosclerosis in maintenance haemodialysis patients.* Nephrology Dialysis Transplantation 2007; 22:515 – 521.
- ¹⁰³ **Chitalia N, Recio-Mayoral A, Kaski JC, Banerjee D.** *Vitamin D deficiency and endothelial dysfunction in non-dialysis chronic kidney disease patients.* Atherosclerosis 2012; 220(1):265e8.
- ¹⁰⁴ **Reis JP, von Mühlen D, Michos ED.** *Serum vitamin D, parathyroid hormone levels, and carotid atherosclerosis.* Atherosclerosis 2009; 207:585-90.
- ¹⁰⁵ **Arad Y, Spadaro LA, Roth M.** *Serum concentration of calcium, 1,25 vitamin D and parathyroid hormone are not correlated with coronary calcifications. An electron beam computed tomography study.* Coronary Artery Disease 1998; 9: 513 – 518.
- ¹⁰⁶ **Knox S, Welsh P, Bezlyak V, McConnachie A, Boulton E, Deans KA, Ford I, Batty GD, Burnd H, Cavanagh J, Millar K, McInnes IB, McLean J, Velupillai Y, Shiels P, Tannahill C, Packard CJ, Wallace AM, Sattar N.** *25-Hydroxyvitamin D is lower in deprived groups, but is not associated with carotid intima media thickness or plaques : Results from pSoBid.* Atherosclerosis 2012; 223, 437- 441.
- ¹⁰⁷ **Motiwala SR and Wang TJ.** *Vitamin D and cardiovascular disease.* Current Opinion in Nephrology and Hypertension 2011, 20:000–000.

- ¹⁰⁸ **Ravenell RL, Kamen DL, Spence JD, Hollis BW, Fleury TJ, Janech MG, Almeida JS, Shaftman SR, Oates JC.** *Premature atherosclerosis is asociated with hipovitaminosis D and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor non-use in Lupus Patients.* The American Journal of the Medical Sciences 2011; 30(20): 1.
- ¹⁰⁹ **West SL, Swan VJ, Jamal SA.** *Effects of calcium on cardiovascular events in patients with kidney disease and in a healthy population.* Clinical Journal of the American Society of Nephrology 2010;5(1):S41–7.
- ¹¹⁰ **Shao JS, Cheng SL, Sadhu J, Towler DA.** *Inflammation and the osteogenic regulation of vascular calcification: a review and perspective.* Hypertension 2010; 55:579–92.
- ¹¹¹ **Kovacic JC, Harvey RP, Dimmeler S.** *Cardiovascular regenerative medicine: Digging in for the long haul.* Cell Stem Cell 2007; 1: 628-33.
- ¹¹² **Vasa M, Fichtlcherer S, Aicher A, Adler k, urbich C, Martin H, Zeiher A, Dimmeler S.** *Number and migratoty activity of circulating endotelial progenitor cells inversely correlate with risk factor for artery coronary disease.* Circulation Research 2001 ; 8: 1-7.
- ¹¹³ **Xiao Q, Kiechl S, Patel S, Oberhollenzer , Weger S, Mayr A, Metzler B, Reindl M, Hu Y, Willeit J, Xu Q.** *Endothelial progenitor cells, cardiovascular risk factors, citokyne levels and aterosclerosis-results from a large population-based study.* PLoS ONE 2007 2(10): 975.
- ¹¹⁴ **Mikirova NA, Belcaro G, Jackson JA, Riordan NH.** *Vitamin D concentrations, endotelial progenitor cells, and cardiovascular risk factors.* Panminerva Medica 2010;52(1-2):1-7
- ¹¹⁵ **Cardus A, Panizo S, Encinas M, Dolcet X, Gallego C, Aldea M, Fernandez E, Valdivieso JM.** *1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates VEGF production through a vitamin D response element in the VEGF promoter.* Atherosclerosis 2009; 204:85–9.
- ¹¹⁶ **Bickford PC, Tan J, Shytle RD, Sanberg CD, El-Badri N, Sanberg PR.** *Nutraceuticals synergistically promote proliferation of human stem cells.* Stem cells and development 2006;15 : 118-23.
- ¹¹⁷ **Yiu YF, Chan YH, Yiu KH, Siu CW, Li SW, Wong LY, Lee SW, Tam S, Wong EW, Cheung BM, Tse HF.** *Vitamin D Deficiency is Associated with Depletion of Circulating Endothelial Progenitor Cells and Endothelial Dysfunction in Patients with Type 2 Diabetes.* The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2011; 96: 830-835.
- ¹¹⁸ **Yiu YF, Yiu KH, Chan YH, Li SW, Wong LY, Lee SW, Tam S, Wong EW, Lau CP, Cheung BM, Tse HF.** *Randomized controlled trial of vitamin D supplement on endothelial function inpatients with type 2 diabetes.* Atherosclerosis 2013; 227, 140-146.
- ¹¹⁹ **Kamen DL.** *Vitamin D in Lupus New Kid on the Block?* Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases. 2010;68(3):218-22.
- ¹²⁰ **Hollis BW Wagner CL.** *Assessment of dietary vitamin D requirements during pregnancy and lactation.* The American Journal of Clinical Nutrition. 2004;79(5):717-26.
- ¹²¹ **Przybelski RJ Binkley NC.** *Is vitamin D important for preserving cognition? A positive correlation of serum 25-hydroxyvitamin D concentration with cognitive function.* Arch Biochem Biophys. 2007;460(2):202-5.
- ¹²² **Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB.** *25-Hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study.* Archives of Internal Medicine 2008;168:1174–80.

- ¹²³ **Bair T, Muhlestein JBM, May HT.** *Supplementing deficient vitamin D levels is associated with reduced cardiovascular risk.* American College of Cardiology Annual Meeting; March 15; Atlanta, GA 2010; 1186-111.
- ¹²⁴ **Major GC, Alarie F, Dore J, Phouttama S, Tremblay A.** *Supplementation with calcium + vitamin D enhances the beneficial effect of weight loss on plasma lipid and lipoprotein concentrations.* The American Journal of Clinical Nutrition 2007;85:54–9.
- ¹²⁵ **Bolland MJ, Avenell A, Baron JA, Grey A, MacLennan GS, GambleGD, Reid IR.** *Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis.* British Medical Journal 2010; 341:3691.
- ¹²⁶ **Bolland MJ, Grey A, Avenell A, Gamble GD, Reid IR.** *Calcium supplements with or without vitamin D and risk of cardiovascular events: reanalysis of the Women's Health Initiative limited access dataset and meta-analysis.* British Medical Journal 2011; 342:d2040.
- ¹²⁷ **Hennekens CH, Barice EJ.** *Calcium supplements and risk of myocardial infarction: a hypothesis formulated but not yet adequately tested.* The American Journal of Medicine 2011;124: 1097–8.
- ¹²⁸ **Nordin BE, Lewis JR, Daly RM, Horowitz J, Metcalfe A, Lange K, Prince RL.** *The calcium scare—what would Austin Bradford Hill have thought?* Osteoporosis International 2011;22:3073–7.
- ¹²⁹ **Bolland MJ, Barber PA, Doughty RN, Mason B, Horne A, Ames R, Gamble GD, Grey A, Reid IR.** *Vascular events in healthy older women receiving calcium supplementation: randomised controlled trial.* British Medical Journal 2008;336:262–6.
- ¹³⁰ **Hak AE, Pols HA, van Hemert AM, Hofman A, Witteman JC.** *Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study.* Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2000;20:1926–31.
- ¹³¹ **Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW.** *Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart Study.* Calcified Tissue International 2001;68:271–6.
- ¹³² **Farhat GN, Cauley JA, Matthews KA, Newman AB, Johnston J, Mackey R, Edmundowicz D, Sutton-Tyrrell K.** *Volumetric BMD and vascular calcification in middle-aged women: The study of women's health across the nation.* Journal of Bone and Mineral Research 2006;21:1839–46.
- ¹³³ **Hyder JA, Allison MA, Wong N, Papa A, Lang TF, Sirlin C, Gapstur SM, Ouyang P, Carr J, Criqui MC.** *Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study.* American Journal of Epidemiology 2009;169:186–94.
- ¹³⁴ **Szulc P, Samelson EJ, Kiel DP, Delmas PD.** *Increased bone resorption is associated with increased risk of cardiovascular events in men: the MINOS study.* Journal of Bone and Mineral Research 2009;24:2023–31.
- ¹³⁵ **Abedin M, Tintut Y, Demer LL.** *Vascular calcification: mechanisms and clinical ramifications.* Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004;24:1161–70.
- ¹³⁶ **Towler DA.** *Vascular calcification: a perspective on an imminent disease epidemic.* IBMS BoneKEy 2008;5:41–58.

- ¹³⁷ **Samelson EJ, Kiel DP, Broe KE, Zhang Y, Cupples LA, Hannan MT, Wilson PWF, Levy D, Williams SA, Vaccarino V.** *Metacarpal cortical area and risk of coronary heart disease: the Framingham Study.* American Journal of Epidemiology 2004;159:589–95.
- ¹³⁸ **Brandenburg VM, Vervloet MG, Marx N.** *The role of vitamin D in cardiovascular disease: From present evidence to future perspectives.* Atherosclerosis 2012; 225, 253e263
- ¹³⁹ **Price PA, Faus SA, Williamson MK.** *Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D.* Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2000; 20(2):317e27.
- ¹⁴⁰ **Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK.** *Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D.* Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2001;21(10):1610e6.
- ¹⁴¹ **Price PA, Buckley JR, Williamson MK.** *The amino bisphosphonate ibandronate prevents vitamin D toxicity and inhibits vitamin D-induced calcification of arteries, cartilage, lungs and kidneys in rats.* Journal of Nutrition 2001;131(11):2910e5.
- ¹⁴² **Rajasree S, Rajpal K, Kartha CC, Sarma PS, Kutty VR, Iyer CS, Girija G.** *Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels are elevated in South indian patients with ischemic heart disease.* European Journal of Epidemiology. 2001; 17(6): 567-71.
- ¹⁴³ **Slovik D.** *Vitamin D and calcium supplements: Take them or leave them?* Harvard Women's Health Watch. September 2012.3-4.
- ¹⁴⁴ **Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, De Bacquer D, Ducimetière P, Jousilahti P, Keil U, Njølstad I, Oganov RG, Thomsen T, Tunstall-Pedoe H, Tverdal A, Wedel H, Whincup P, Wilhelmsen L, Graham IM; SCORE project group.** *Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project.* European Heart Journal 2003; 24(11): 987-1003.
- ¹⁴⁵ **Bombardier C, Gladman D, Urowitz M, Caron D, Chang CH, the Committee on prognosis studies in SLE.** *Derivation of the SLE.* Arthritis & Rheumatism 1992; 35: 630-639.
- ¹⁴⁶ **Gladman DD, Urowitz MB.** *Morbidity in systemic lupus erythematosus.* The Journal of Rheumatology 1987; 14 (13): 223-226.
- ¹⁴⁷ **Granado-Lorencio F, Herrero-Barbudo C, Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B.** *Suitability of ultra-high performance liquid chromatography for the determination of fat-soluble nutritional status (vitamins A, E, D, and individual carotenoids).* Analytical and Bioanalytical Chemistry 2010; 397:1389–1393.
- ¹⁴⁸ **Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B, Boutouyrie P.** *Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension.* Stroke 2003; 34(5): 1203-1206.
- ¹⁴⁹ **Jiménez C, Marco V.** *Doppler velocity analysis in occlusion and normal carotid arteries.* Cerebrovascular Diseases 2003; 16 Suppl 2: 21.
- ¹⁵⁰ **Elshal MF, Khan SS, Takahashi Y, Solomon MA, McCoy JP Jr.** *CD146 (Mel-CAM), an adhesion marker of endothelial cells, is a novel marker of lymphocyte subset activation in normal peripheral blood.* Blood 2005; 106(8): 2923-2924.

- ¹⁵¹ **Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, Oz MC.** *Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors.* Blood 2000; 95: 952-958.
- ¹⁵² **Khan SS, Solomon MA, McCoy JP.** *Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry.* Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 2005; 64B: 1-8.
- ¹⁵³ **Boutouyrie P.** *The references values for arterial stiffness collaboration. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: "establishing normal and references values".* European Heart Journal 2010 June.
- ¹⁵⁴ **López-Robles C, Ríos-Fernández R, Callejas Rubio JL.** *Vitamin D deficiency in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus from the South of Spai.* Lupus March 2011; 20 (3): 330-331.
- ¹⁵⁵ **Huisman AM, White KP, Algra A, Harth M, Vieth R, Jacobs JW.** *Vitamin D levels in women with systemic lupus erythematosus and fibromyalgia.* The Journal of Rheumatology 2001;28(11):2535-9.
- ¹⁵⁶ **Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS.** *Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus.* Autoimmunity Reviews 2006 (5) 114-117.
- ¹⁵⁷ **Kamen D, Aranow C.** *Vitamin D in systemic lupus erythematosus.* Current Opinion in Rheumatology 2008; 20 (5): 532-7.
- ¹⁵⁸ **Tolozá SMA, Cole DEC, Gladman DD, Ibáñez D, Urowitz MB.** *Vitamin D insufficiency in a large female SLE cohort.* Lupus 2010; 19,13-19
- ¹⁵⁹ **Pernsteiner J.** *Worldwide vitamin D deficiency. Report: Northern Europe has better values than Mediterranean countries.* Kinderkrankenschwester 2009; 28:390
- ¹⁶⁰ **Martins D, Wolf M, Pan D, Zadshir A, Tareen N, Thadhani R.** *Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey.* Archives of Internal Medicine 2007;167(11):1159-65.
- ¹⁶¹ **Anderson JL, May HT, Horne BD.** *Intermountain Heart Collaborative (IHC) Study Group. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population.* American Journal of Cardiology 2010;106:963-8.
- ¹⁶² **Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD.** *Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension.* Hypertension 2007;49:1063-9.
- ¹⁶³ **Forman JP, Curran GC, Taylor EN.** *Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension among young women.* Hypertension 2008;52:828-32.
- ¹⁶⁴ **Krause R, Buhning M, Hopfenmuller W, Holick MF, Sharma AM.** *Ultraviolet B and blood pressure.* Lancet 1998;352(9129):709e10.
- ¹⁶⁵ **Pilz S, Tomaschitz A, Marz W, Wellnitz B, Seelhorst U, Fahrleitner-Pammer A, Dimai HP.** *Vitamin D, cardiovascular disease and mortality.* Clinical Endocrinology (Oxford) 2011; 75(5):575e84.

- ¹⁶⁶ **Hsia J, Heiss G, Ren H.** *Calcium/vitamin D supplementation and cardiovascular events.* *Circulation* 2007; 115(7):846e54.
- ¹⁶⁷ **Pérez-Castrillón JL, Justo I, Sanz A, De Luis D, Dueñas A.** *Relationship between ACE Inhibitors and 1.25-(OH)₂ D Levels of Hypertensive Patients. Relationship with ACE Polymorphisms.* *Hormone and Metabolic Research* 2006; 38: 812–816.
- ¹⁶⁸ **Hypponen E, Power C.** *Vitamin D status and glucose homeostasis in the 1958 British birth cohort: the role of obesity.* *Diabetes Care* 2006; 29(10): 2244–6.
- ¹⁶⁹ **Karhapaa P, Pihlajamaki J, Porsti I, Kastarinen M, Mustonen J, Niemelä O.** *Diverse associations of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D with dyslipidaemias.* *Journal of Internal Medicine* 2010; 268:604–610.
- ¹⁷⁰ **Pérez-Castrillón JL, Vega G, Abad L, Sanz A, Chaves J, Hernández G, Dueñas A.** *Effects of Atorvastatin on Vitamin D levels.* *American Journal of Cardiology.* 2007 Oct 15; 100(8): 1329
- ¹⁷¹ **Sathyapalan T, Shepherd J, Arnett C.** *Atorvastatin increases 25 hydroxyvitamin D concentration in patients with polycystic ovary syndrom.* *Clinical Chemistry* 2010 Nov; 56 (11): 1696-700.
- ¹⁷² **Gupta A, Thompson PD.** *The relationship of vitamin D deficiency to statins.* *Atherosclerosis.* 2011 Sep; 218 (1): 247-9.
- ¹⁷³ **Beltowski J, Atanassova P, Chaldakov GN.** *Opposite effects of pravastatin and atorvastatin in Vitamin D levels.* *Atherosclerosis.* 2011 Dec; 219 (2): 526-31.
- ¹⁷⁴ **Zitterman A.** *The role of vitamin D in dyslipemia and cardiovascular disease.* *Current Pharmaceutical Design* . 2011; 17(9): 933-42
- ¹⁷⁵ **Shea MK, Booth SL, Massaro JM, Jacques PF, D'Agostino RB.** *Vitamin K and vitamin D status: associations with inflammatory markers in the Framingham Offspring Study.* *American Journal of Epidemiology* 2008; 167(3):313–320.
- ¹⁷⁶ **Timms PM, Mannan N, Hitman GA, Noonan K, Mills PG.** *Circulating MMP9, vitamin D and variation in the TIMP-1 response with VDR genotype: mechanisms for inflammatory damage in chronic disorders? QJM.* 2002;95(12)787–796.
- ¹⁷⁷ **Pittas AG, Harris SS, Stark PC, Dawson-Hughes B.** *The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults.* *Diabetes Care.* 2007;30(4):980–986.
- ¹⁷⁸ **Jorde R, Haug E, Figenschau Y, Hansen JB.** *Serum Levels of Vitamin D and Haemostatic Factors in Healthy Subjects: The Tromso Study.* *Acta Haematologica* . 2006; 117(2): 91–97.
- ¹⁷⁹ **Ridker PM, Silvertown JD.** *Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis.* *Journal of Periodontology* 2008; 79:1544 –1551
- ¹⁸⁰ **Lee S, Singh S, Link K, Petri M.** *High-Sensitivity C-Reactive Protein as an Associate of Clinical Subsets and Organ Damage in Systemic Lupus Erythematosus.* *Seminars in Arthritis & Rheumatism* 2008; 38: 41–54.

- ¹⁸¹ **Erem C, Kocak M, Hacıhasanoglu A, Yilmaz M, Saglam F, Ersoz HO.** *Blood coagulation, fibrinolysis and lipid profile in patients with primary hyperparathyroidism: increased plasma factor VII and X activities and D-dimer levels.* *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 2008; 116: 619 – 624
- ¹⁸² **Orbach H, Zandman-Goddard G, Amital H.** *Novel biomarkers in autoimmune diseases: prolactin, ferritin, vitamin D, and TPA levels in autoimmune diseases.* *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007;1109:385-400.
- ¹⁸³ **Pike JW, Meyer MB.** *The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3).* *Endocrinology Metabolism Clinics of North America* 2010; 39:255-69.
- ¹⁸⁴ **Ben-Zvi I, Aranow C, Mackay M.** *The impact of vitamin D on dendritic cell function in patients with systemic lupus erythematosus.* *PLoS One.* 2010;5(2):e9193.
- ¹⁸⁵ **Cusack C, Danby C, Fallon JC.** *Photoprotective behaviour and sunscreen use: impact on vitamin D levels in cutaneous lupus erythematosus.* *Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine* 2008;24:260-7.
- ¹⁸⁶ **Klein RG, Arnaud SB, Gallagher JC, Deluca HF, Riggs BL.** *Intestinal calcium absorption in exogenous hypercortisonism. Role of 25-hydroxyvitamin D and corticosteroid dose.* *Journal of Clinical Investigation* 1977;60(1):253–9.
- ¹⁸⁷ **O’Leary TJ, Jones G, Yip A, Lohnes D, Cohanin M, Yendt ER.** *The effects of chloroquine on serum 1,25-dihydroxyvitamin D and calcium metabolism in sarcoidosis.* *The New England Journal of Medicine* 1986; 315(12):727– 30.
- ¹⁸⁸ **Barre’ PE, Gascon-Barre’ M, Meakins JL, Goltzman D.** *Hydroxychloroquine treatment of hypercalcemia in a patient with sarcoidosis undergoing hemodialysis.* *The American Journal of Medicine* 1987;82:1259-62.
- ¹⁸⁹ **Carvalho JF, Blank M, Kiss E, Tarr T, Amital H, Shoenfeld Y.** *Anti-vitamin D, vitamin D in SLE: preliminary results.* *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007; 1109:550-7
- ¹⁹⁰ **Del Rincon I, O’Leary DH, Haas RW, Escalante A.** *Effect of glucocorticoids on the arteries in rheumatoid arthritis.* *Arthritis & Rheumatism* 2004; 50(12): 3813–22.
- ¹⁹¹ **De Boer IH, Kestenbaum B, Shoben AB, Michos ED.** *25-hydroxyvitamin D levels inversely associate with risk for developing coronary artery calcification.* *Journal of the American Society of Nephrology* 2009; 20: 1805-12.
- ¹⁹² **Manson JE, Allison MA, Carr JJ.** *Calcium/vitamin D supplementation and coronary artery calcification in the women’s health initiative.* *Menopause* 2010;17(4):683e91.
- ¹⁹³ **Pentti K, Tuppurainen MT, Honkanen R.** *Use of calcium supplements and the risk of coronary heart disease in 52-62-year-old women: The Kuopio Osteoporosis Risk Factor and Prevention Study.* *Maturitas* 2009; 63:73-8.
- ¹⁹⁴ **Angel K, Provan SA, Gulseth HL.** *Tumor necrosis factor- α antagonists improve aortic stiffness in patients with inflammatory arthropathies: a controlled study.* *Hypertension* 2010; 55:333-338.